

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

EFFETS DE SIX PESTICIDES À TOXICITÉ RÉDUITE SUR DEUX ACARIENS
PRÉDATEURS (ACARI : PHYTOSEIIDAE)

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
LEFEBVRE, MAXIME

DÉCEMBRE 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier en premier lieu mon directeur de recherche le Dr Yves Mauffette, vice-recteur à la recherche et à la création de l'Université du Québec à Montréal. Monsieur Mauffette a bien su me faire réaliser les différentes notions importantes de la recherche scientifique qui font de moi aujourd'hui un scientifique accompli, prêt à voler de ses propres ailes.

J'aimerais remercier un personnage très important, sans qui mon projet n'aurait jamais eu lieu. Merci au Dr Noubar J. Bostanian (Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherche et développement en horticulture (CRDH) à Saint-Jean-sur-Richelieu) pour son expertise exceptionnelle sur le sujet, pour son apport technique, scientifique et financier. Travailler avec lui a été pour moi très agréable, formateur et significatif; je l'en remercie.

Il est important de remercier et de souligner la participation de Monsieur Gaétan Racette, technicien à Agriculture et Agroalimentaire Canada, pour son expertise au niveau technique et scientifique. Monsieur Racette a toujours été présent pour me soutenir, pour collaborer au niveau de l'analyse et de la rédaction des différents rapports. Sa patience et sa bonne humeur son légendaire. Je cite ici une phrase maintenant célèbre qui signifie par elle-même l'importance de cet homme : « Tout le monde devrait avoir son Gaétan ».

Je remercie Monsieur Hugh Philip, technicien à Agriculture et Agroalimentaire Canada, pour avoir gentiment fourni les spécimens récoltés sur le terrain, à Kelowna, C.B., Canada. Merci beaucoup aussi à tous les différents stagiaires qui ont travaillé avec moi durant ces deux années. Qu'ils aient été Canadiens, Français ou Suisses, leur présence a été pour moi essentielle. J'ai passé du

très bon temps en leur compagnie et je resterai toujours sensible aux efforts qu'ils ont déployés. Merci à Erin McGregor, Rahel Buchmann, Isabelle Barriault, Philippe Langelier, Sophie Gagné, Pierre Reltien, Cécile Fercoq, Grégoire Malaval, Émilien Lamotte, Phillippe Hogan, Fanny Mathieu et Pierre-Yves Véronneau.

J'aimerais remercier finalement ma famille, mes amis pour leur appui et leur soutien et spécialement ma compagne, Marie-Pier Lepage pour son enthousiasme, ses encouragements et ses conseils.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	x
RÉSUMÉ	xi
CHAPITRE I	
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1 Contexte de l'étude	1
1.2 Problématique	6
1.3 Toxicité et résistance chez les Phytoseiidae.....	7
1.4 Évaluation de la toxicité.....	8
1.5 Pesticides à l'étude.....	12
1.5.1 Le chlorantraniliprole et le flubendiamide.....	12
1.5.2 Le spirotetramat	14
1.5.3 Le spinetoram.....	14
1.5.4 Le novaluron	15
1.5.5 Le clothianidin	15
1.6 Hypothèses	16
1.7 Structure du document	17
1.8 Contribution des coauteurs pour chacun des articles présentés	18
CHAPITRE II	
A LABORATORY ASSESSMENT OF THE TOXIC ATTRIBUTE OF SIX 'REDUCED RISK INSECTICIDES' ON <i>GALENDROMUS OCCIDENTALIS</i> (ACARI : PHYTOSEIIDAE).....	19
2.1. Introduction.....	21
2.2. Materials and Methods.....	24
2.2.1 Rearing of <i>G. occidentalis</i>	24

2.2.2 Insecticides and treatment methodology	24
2.2.3 Treatment of eggs.....	26
2.2.4 Treatment of larvae	26
2.2.5 Adult mortality and fecundity	27
2.2.6 Analysis of data.....	28
2.3. Results	29
2.4. Discussion	30
2.5. Conclusion.....	34
2.6. Acknowledgement.....	35
CHAPITRE III	
LABORATORY ASSESSMENTS ON THE TOXICOLOGICAL ATTRIBUTES OF NEW INSECTICIDES ON MORTALITY AND FECUNDITY OF <i>NEOSEIULUS</i> <i>FALLACIS</i> (GARMAN) (ACARI : PHYTOSEIIDAE)	
3.1. Introduction	43
3.2. Materials and methods	45
3.2.1 Rearing of <i>N. fallacis</i>	45
3.2.2 Insecticides and treatment methodology	46
3.2.3 Treatment of eggs, larvae and adults.	47
3.2.4 Analysis of data.....	47
3.3. Results	48
3.4. Discussion	49
3.5. Conclusion.....	51
3.6. Acknowledgement.....	52
CONCLUSION	59
ANNEXE I	
MODÈLE STATISTIQUE PROBIT UTILISÉ DANS L'ÉTUDE	
A.1 Analyse statistique.....	62
A.1.1 Modèle général : Régression d'une variable réponse binaire en relation avec une variable explicative	62

A.1.2 Analyse statistique Probit ou Logit.....	63	
A.1.3 Les rapports de concentrations létales :.....	66	
A.1.4 Tests d’hypothèses :	68	
A.1.5 Logiciels utilisés :	70	
ANNEXE II		
ANALYSE COMPLÉMENTAIRE DE COMPARAISON DE LA TOXICITÉ RELATIVE DE SPIROTETRAMAT, SPINETORAM ET CLOTHIANIDIN ENTRE LES ESPÈCES ÉTUDIÉES.....		71
BIBLIOGRAPHIE		80

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
A. 1	Pourcentages de mortalité des femelles <i>G. occidentalis</i> (trait pointillé) et <i>N. fallacis</i> (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de clothianidin.	76
A. 2	Pourcentages de mortalité des femelles <i>G. occidentalis</i> (trait pointillé) et <i>N. fallacis</i> (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de spinetoram	77
A. 3	Pourcentages de mortalité des femelles <i>G. occidentalis</i> (trait pointillé) et <i>N. fallacis</i> (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de spirotetramat	78
A. 4	Représentation graphique des résidus de la régression de la mortalité de <i>Galendromus occidentalis</i> suite à une exposition au clothianidin.	79

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
2.1 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides to <i>G. occidentalis</i> eggs.....	36
2.2 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides to <i>G. occidentalis</i> larvae.	37
2.3 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides at multiples of the recommended label rates (X) to adult female <i>G. occidentalis</i>	38
2.4 LC ₅₀ estimates of three 'reduced risk' insecticides to adult female <i>G. occidentalis</i>	39
2.5 Effects of five 'reduced risk' insecticides on the fecundity of <i>G. occidentalis</i> at 24 h intervals.	40
3.1 Toxicity of six 'reduced risk insecticide' on <i>Neoseiulus fallacis</i> eggs at 72 h post treatment.	53
3.2 Toxicity of six 'reduced risk insecticide' on <i>Neoseiulus fallacis</i> larvae.....	54
3.3 Mortality of <i>Neoseiulus fallacis</i> adults to different concentrations of six 'reduced risk insecticides'.	55
3.4 LC ₅₀ estimates for 'worst-case laboratory exposure' of three 'reduced risk insecticides' on <i>Neoseiulus fallacis</i>	56
3.5 Toxic effects of five 'reduced risk insecticides' on the fecundity of <i>Neoseiulus fallacis</i> at 24 h intervals.	57
3.6 Summary of the effects of six 'reduced risk insecticides' on <i>Neoseiulus fallacis</i>	58
A.1 Valeurs des CL ₅₀ de trois ingrédients actifs pour deux espèces d'acariens prédateurs, <i>Galendromus occidentalis</i> et <i>Neoseiulus fallacis</i> au stade femelle adulte selon deux méthodes de présentation des données pour l'analyse statistique lors d'épreuves biologiques en laboratoire.	73

A.2	Tests de Parallélisme et d'égalité des régressions obtenues par analyse Probit sur la toxicité de trois ingrédients actifs évalués sur <i>Galendromus occidentalis</i> et <i>Neoseiulus fallacis</i>	74
A.3	Analyse des rapports des CL ₅₀ entre <i>Galendromus occidentalis</i> et <i>Neoseiulus fallacis</i> pour trois ingrédients actifs à l'étude.	74
A.4	Analyse des rapports des CL ₅₀ entre chaque ingrédient actif pour chaque prédateur Phytoseiidae	75

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

PLI	Programme de lutte intégrée
IPM	Integrated Pest Management (terme anglais de PLI)
CL ₅₀	Concentration létale médiane
DL ₅₀	Dose létale médiane
OPs	Organophosphorés
PYRs	Pyréthrinoïdes de synthèses
DDT	2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane

RÉSUMÉ

En programme de lutte intégrée (PLI), les pesticides visant la répression des insectes ravageurs doivent s'agencer avec la lutte biologique qui s'y déroule. La description de l'impact des pesticides utilisés est donc essentielle pour la conservation des agents de lutte biologique en vergers. Dans cette étude, les effets toxicologiques de six nouveaux pesticides à base de spinetoram, novaluron, spirotetramat, chlorantraniliprole, flubendiamide et clothianidin sont décrits, envers les acariens prédateurs *Galendromus occidentalis* (Nesbitt) et *Neoseiulus fallacis* (Garman). Réalisés en laboratoire, les épreuves biologiques sont effectués en condition d'exposition extrême, où les toxicités de contact et résiduelle ont été évaluées sur l'éclosion des œufs, le stade larvaire, les femelles adultes et la fécondité. Le spinetoram et le spirotetramat se révèlent toxiques dans la majorité des tests réalisés. La concentration appliquée en verger du spinetoram est 34,33 fois supérieure à la valeur de la CL_{50} chez *G. occidentalis* et 14,02 fois supérieure chez *N. fallacis*. Le novaluron est néfaste aux larves des deux espèces. Le clothianidin démontre une toxicité intermédiaire généralisée, plus prononcée chez *N. fallacis*. Le flubendiamide et le chlorantraniliprole ne sont pas toxiques, à l'exception de ce dernier sur des larves de *G. occidentalis*. Le spinetoram et le spirotetramat devraient être évités en PLI en présence de ces acariens prédateurs. À ceux-ci s'ajoute le clothianidin en présence de *N. fallacis*. La tolérance de ces deux Phytoseiidae devra être vérifiée sur le terrain concernant le novaluron, en plus du chlorantraniliprole et le clothianidin spécifiquement pour *G. occidentalis*. L'étude démontre la compatibilité du flubendiamide avec les deux espèces et du chlorantraniliprole avec *N. fallacis*. Ces connaissances essentielles permettront de mieux gérer l'utilisation de ces produits en PLI et ainsi conserver ces agents efficaces de lutte biologique dans nos vergers.

CHAPITRE I

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Contexte de l'étude

La pomiculture en Amérique du Nord est considérée comme une des cultures fruitières des plus importantes, avec des retombés économiques non négligeables. Les principales régions productrices de pommes au Canada sont la Colombie-Britannique, l'Ontario, le Québec et la Nouvelle-Écosse. En 2006, 22 101 hectares au total y étaient consacrés, dont 6 541 ha au Québec (27%) et 4 470 ha en Colombie-Britannique (24%) (Statistique Canada, 2006). En 2002, La valeur économique de ces fermes s'élevait à 166 millions de dollars produisant 41 900 tonnes de pommes (Solymar, 2004). Aux États-Unis, les états de Washington (2 517 000 tonnes), de New York (566 000 tonnes), du Michigan (394 625 tonnes), de Pennsylvanie (213 188 tonnes) et de la Caroline du Nord (161 025 tonnes) sont les plus productifs avec un grand total de production s'élevant à 4 237 700 tonnes de pommes produites en 2006, en vergers commerciaux (U.S. Department of Agriculture, 2008). Cette culture est importante pour l'économie nord américaine, tant au niveau régional que national. Cependant, les obstacles entravant une production saine et abondante sont nombreux.

La culture de la pomme est sensible à plusieurs facteurs biotiques et abiotiques qui peuvent endommager la récolte et diminuer la production. La majorité des dépenses s'effectue au niveau de la lutte phytosanitaire. La tavelure du pommier *Venturia inaequalis* Cooke (Winter) (Fungi : Ascomycota) et la brûlure bactérienne sont les principales maladies que l'on retrouve dans les vergers. La production de pomme repose sur l'application de 6 à 10 traitements de fongicides par saison,

notamment pour lutter contre la tavelure de la pomme (Bostanian et *al.*, 1984). De plus, l'entomofaune y est abondante et diversifiée. Oatman et *al.* (1964) ont rapporté plus de 760 espèces d'arthropodes dans un verger du Wisconsin n'ayant jamais reçu d'applications de pesticides. Cependant, il n'y a qu'une dizaine d'espèces qui sont problématiques. Au Québec, les principaux arthropodes ravageurs primaires de la pomme, c'est-à-dire les espèces qui causent le plus de dommages et dont une surveillance constante est requise, sont le charançon de la prune, *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera : Curculionidae); le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Pyralidae); la mouche de la pomme, *Rhagoletis pomonella* Walsh (Diptera : Tephritidae) et la tordeuse à bandes obliques, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera : Tortricidae) (Solymar, 2004). Ces insectes nécessitent beaucoup d'attention et d'investissement afin d'éviter des infestations. Il existe en plus un grand nombre de ravageurs secondaires, dont l'importance et la présence varient d'une région à l'autre, comme l'hoplocampe du pommier, *Hoplocampa testudinea* (Klug) (Hymenoptera : Tenthredinidae); le puceron rose du pommier, *Dysaphis plantaginea* (Passerini) (Homoptera : Aphididae) et la punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera : Miridae), très présente au Québec. De plus, nous retrouvons aussi certains acariens phytophages comme le tétranyque rouge du pommier, *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari : Tetranychidae); le tétranyque à deux points, *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae) et l'ériophyte du pommier, *Aculus schlechtendali* (Nalepa) (Acari : Eriophyidae). La lutte envers toute cette gamme d'organismes est donc d'une importance capitale pour conserver une production saine, où la quantité de dommages sur les pommes est économiquement tolérable.

Depuis la fin de la Deuxième Guerre mondiale, les pomiculteurs se sont tournés massivement vers les pesticides chimiques comme moyen de lutte contre les arthropodes ravageurs. Le 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroéthane (DDT) était le produit le plus utilisé entre 1945 à 1965 (Metcalf et Luckmann, 1982). Puisque les

consommateurs attachent encore une grande importance à l'apparence des fruits, les pommes doivent être exemptes de dommages causés par des insectes, par des maladies ou par des désordres physiologiques. Les produits chimiques comme les organophosphorés (OPs) ont remplacé le DDT au début des années cinquante. Ils ont été largement utilisés et ont permis de diminuer les populations d'arthropodes ravageurs et leurs dommages associés. Cependant, de nombreux problèmes ont été créés suite à cette utilisation abusive. Les principaux impacts négatifs, outre la perturbation de l'environnement et leur toxicité envers la santé humaine, sont l'induction de résistances (Croft, 1979) auprès des insectes ravageurs et les épidémies d'insectes ravageurs secondaires (Huffaker et *al.*, 1969). Plus spécifiquement, à partir de 1940, l'utilisation massive d'OPs efficaces contre des ravageurs primaires a causée de plus en plus de problèmes au niveau de la lutte aux arthropodes nuisibles secondaires (acariens, pucerons,...). Il n'était pas rare d'observer que les populations d'acariens phytophages réprimées par les pesticides chimiques augmentaient drastiquement après un traitement chimique (Croft, 1990), dus principalement à leur capacité de développer de la résistance. Il eut une période de transition pénible, où la lutte aux acariens phytophages n'était pas couronnée de succès. Ce fut le cas entre les années 1950 et 1960, jusqu'à l'apparition d'ennemis naturels résistants aux pesticides (Croft, 1982). Ces contraintes et ces nouveaux développements ont permis la mise en place de méthodes de lutte plus durables et écologiques, notamment la lutte intégrée.

Une préoccupation sociale s'est développée depuis le début des années 70 en ce qui concerne la santé humaine et environnementale. Cette vague sociale a incité les entomologistes à créer des méthodes de lutte alternatives aux pesticides, en adoptant une nouvelle vision et une nouvelle approche pour la lutte aux arthropodes nuisibles (Bostanian et Racette, 2008). Les Programmes de lutte intégrée (PLI) (en anglais : Integrated Pest Management, IPM) impliquent l'utilisation de différentes stratégies compatibles de répression des agents nuisibles à différents systèmes agricoles, menant à la diminution des populations des ravageurs à un seuil où les dommages

sont économiquement tolérables. Ces techniques sont combinées en tenant compte des relations interspécifiques naturelles, où l'écologie des ravageurs est à l'origine des décisions des techniques de répression (Gerson et *al.*, 2003). L'application de pesticides peut être une de ces techniques, mais il est impératif que les produits utilisés soient compatibles avec les autres techniques de répression, comme la lutte biologique (Gerson et *al.*, 2003; Saenz-de-Cabezón Irigaray et Zalom, 2007). Dans ces cas, les agents de lutte biologique ne devront pas être exposés aux pesticides appliqués ou encore ils devront être résistants à ceux-ci. C'est sur ce dernier point que s'est développée la lutte intégrée des acariens phytophages de nombreux vergers d'Amérique du Nord.

Pendant que les pomiculteurs combattaient les insectes nuisibles primaires à l'aide de pesticides chimiques et que, par ce fait, plusieurs arthropodes secondaires créaient de plus en plus de dommages, certains prédateurs et ennemis naturels développaient aussi de la résistance à certains pesticides. En effet, la première mention d'un acarien prédateur résistant remonte à 1953, où Huffaker et Kennett (1953) ont observé la résistance aux applications de parathion chez une population de *Galendromus occidentalis* (Nesbitt). Ce prédateur est devenu en 1961 l'agent de lutte biologique clé à utiliser en PLI. Le même phénomène a été observé en 1965 dans certains vergers de la Colombie Britannique, où ce prédateur s'est retrouvé en grand nombre (Downing et Arrand, 1978). Ces événements ont permis la création et l'implantation de PLI où les acariens phytophages étaient réprimés biologiquement par leurs ennemis naturels et où les autres arthropodes nuisibles étaient réprimés chimiquement. Encore aujourd'hui, l'utilisation de souches résistantes de *G. occidentalis* est encore le fondement des programmes de lutte intégrée contre les acariens phytophages de l'état de Washington (Beers et *al.*, 2005). Du côté Est de l'Amérique du Nord, un événement semblable a permis l'implantation d'un PLI. Depuis les années 70, l'acarien prédateur *Neoseiulus fallacis* (Garman) a développé une résistance aux OPs, au carbaryle et aux pyréthrinoïdes (PYPs) (Thistlewood et

al., 1995). Grâce à son abondance et son efficacité, la lutte intégrée utilisant cette espèce s'est établie avec succès dans les états du New Jersey (Swift, 1970), de la Caroline du Nord (Rock, 1972), du Michigan (Croft, 1975), de New York (Weires et *al.*, 1979), et dans les provinces Canadiennes de l'Ontario et du Québec (Bostanian et *al.*, 2006). La conservation des prédateurs est devenue la stratégie à préconiser et fait maintenant partie intégrale des programmes de lutte des acariens phytophages par les Phytoseiidæ à travers le monde (Saenz-de-Cabezón Irigaray et Zalom, 2007). L'augmentation et le maintien des populations naturelles sont possibles en partie grâce à une utilisation minimale d'intrants toxiques pour ces prédateurs (Saenz-de-Cabezón Irigaray et Zalom, 2006). Un équilibre viable s'est ainsi créé dans les vergers entre la lutte biologique et la lutte chimique, permettant une lutte efficace des populations d'arthropodes ravageurs.

Les PLI, où les acariens phytophages sont la cible de la lutte biologique, sont implantés dans de nombreuses régions et sont efficaces depuis des décennies. Les règles à suivre pour conserver les Phytoseiidae présents dans les vergers sont simples et peu coûteuses. La principale considération est d'éviter l'utilisation de pesticides nocifs aux espèces de Phytoseiidae présents. Au besoin, il est possible, pour un coût minimal, d'introduire d'autres individus de ces espèces ou d'autres espèces prédatrices pour augmenter leurs populations et ainsi diminuer les dommages des acariens phytophages. Dans cette optique, il existait au Québec 600 ha où aucun acaricide n'a été utilisé pendant au moins cinq ans, où les acariens phytophages étaient réprimés biologiquement (Bostanian et *al.*, 2004). Il est aussi avantageux pour un pomiculteur d'utiliser la lutte biologique pour diminuer ses coûts de production. En effet, un pomiculteur qui opte pour la lutte biologique des acariens phytophages peut économiser 300\$/ha par saison en évitant l'achat d'acaricides chimiques (Lasnier et *al.*, 2002). Une économie des coûts reliés au temps d'application est réalisée, ainsi qu'une diminution des impacts environnementaux et des possibilités de développement de la résistance chez les acariens phytophages.

1.2 Problématique

Les préoccupations sociales concernant les impacts de l'industrialisation et des produits chimiques sur la santé humaine sont de plus en plus présentes. La conscience des consommateurs s'éveille à l'égard des méthodes de culture des fruits et légumes et de leurs impacts sur l'environnement. Cette tendance a amené les gouvernements à se pencher sur le problème des pesticides en agriculture. Dans cette optique le gouvernement américain a, depuis le passage de la « Food Quality Protection Act (United States) » en 1996, commencé à réévaluer et restreindre l'utilisation de certains pesticides, comme les OPs (Bostanian et Racette, 2008). Cet événement, couplé à la présence de résistance aux pesticides chez les arthropodes ravageurs a stimulé le marché pour la production de nouveaux pesticides, où les impacts sur la santé humaine et l'environnement sont moindres. Ces nouveaux pesticides dits à « toxicité réduite » possèdent de nouvelles molécules qui agissent sur les organismes par de nouveaux modes d'action. Les pesticides à toxicité réduite sont plus spécifiques et moins toxiques envers les utilisateurs que les insecticides à large spectre, comme les OPs et les carbamates (Villanueva et Walgenbach, 2005). Ces pesticides représentent un groupe diversifié de produits chimiques avec une multitude de modes d'action et de cibles se traduisant par une sensibilité variable chez les différentes espèces d'organismes utiles. (Villanueva et Walgenbach, 2005). Dû aux variations interspécifiques et aux variations moléculaires des pesticides ayant le même mode d'action, nous nous devons d'évaluer l'impact de chaque pesticide sur l'ensemble des agents de lutte biologique ayant un risque non négligeable d'y être exposés. Il est donc important de connaître l'effet de chacun de ces pesticides pour le maintien des PLI.

Dû à la disparition très prochaine des OPs et du besoin imminent d'information concernant la compatibilité des nouveaux pesticides dans des PLI, nous

proposons dans cette étude de décrire les impacts de six nouvelles matières actives (spinetoram, spirotetramat, clothianidin, chlorantraniliprole, flubendiamide et novaluron) sur la mortalité et la fécondité de deux acariens prédateur, *G. occidentalis* et *N. fallacis* en conditions d'exposition extrême en laboratoire, c'est-à-dire en pulvérisation directe, où les spécimens ne peuvent échapper aux pesticides et ses effets.

1.3 Toxicité et résistance chez les Phytoseiidae

Les Phytoseiidae sont les acariens utilisés comme agent de lutte biologique qui ont subi le plus de tests de toxicité pour déterminer les effets des produits chimiques utilisés en agriculture. De façon très générale, ils sont sensibles aux organophosphorés, organochlorés, carbamates et pyréthrine. Cependant, des résultats très surprenants et variables ont été observés à travers les tests réalisés sur différentes espèces.

Le développement de résistance chez les arthropodes est dû principalement à trois mécanismes : une diminution du taux de pénétration des produits, un changement physiologique au niveau du site d'action et une augmentation de l'efficacité des enzymes détoxifiantes. Ce dernier point est considéré comme le plus important dans le développement de résistances chez les acariens. Les Phytoseiidae possèdent une variété de systèmes enzymatiques qui neutralisent les pesticides, incluant des estérases, la glutathion S-transférase et un complexe de fonction oxydase (Gerson et *al.*, 2003). Une étude des mécanismes de résistance au azinphosmethyl chez *N. fallacis* (Motoyama et *al.*, 1971) indique que cette espèce n'inhibe pas l'activité de la cholinestérase, ce qui implique qu'il n'y a pas de modification des enzymes au site d'action du pesticide. Il n'y a pas non plus de diminution de la pénétration du produit. La résistance serait due à la présence d'une enzyme servant à la dégradation du pesticide et à une augmentation de l'activité de celle-ci.

De nombreux facteurs influencent la sensibilité d'une espèce à un pesticide donné. Certains sont plus évidents, comme les facteurs reliés aux pesticides, mais de nombreux autres facteurs sont tout aussi importants, comme les conditions environnementales, les attributs intrinsèques des espèces ainsi que les caractéristiques des individus. L'âge et le stade font partie de ces caractères qui modulent leur sensibilité aux pesticides. Les juvéniles sont en générales plus affectés par des doses plus faibles de pesticides de par leur rapport surface/volume et par une cuticule moins épaisse et moins sclérifiée (Zhang et Croft, 1994). Certaines caractéristiques écologiques des ennemis naturels peuvent être des indices de leur sensibilité aux pesticides : la spécialisation, les habitudes alimentaires et les sources de nourriture alternatives. Une plus grande variété de proies implique une plus grande exposition aux résidus de pesticides, ou à une plus grande exposition aux composés secondaires des plantes. Les prédateurs Phytoseiidae se déplaçant sur une plus grande surface de feuille, en comparaison à d'autres prédateurs du type embusqué ou encore aux parasitoïdes. Ils sont donc plus en contact avec les résidus de pesticides. Ils ont ainsi plus de chance de développer une résistance aux pesticides ou d'avoir une tolérance innée (Croft, 1990).

1.4 Évaluation de la toxicité

Les besoins de détermination de la toxicité des pesticides envers les organismes non ciblés ont été reconnus en premier lieu après le développement et l'utilisation à grande échelle du DDT dans les productions fruitières. Dans un esprit de compatibilité des techniques chimique et biologique en lutte intégrée, il est crucial de connaître les effets toxiques des pesticides sur les agents de lutte biologique. La toxicité des nouvelles matières actives est mesurée principalement sur les espèces cibles et les espèces auxiliaires. Cependant, ces études préliminaires n'incluent pas

nécessairement toutes les espèces d'ennemis naturels utilisés dans les PLI. C'est pourquoi il est essentiel d'entreprendre des études toxicologiques pour bien décrire les impacts des nouveaux produits sur les agents de lutte biologique spécifiquement utilisés dans ce contexte (Stark et Banken, 1999).

La première étape de cette évaluation est l'étude en laboratoire des effets toxiques sur les individus. Cette première étape permet une description sommaire des effets toxiques. Ces données sont essentielles pour les études futures réalisées en sur le terrain, où la description de l'effet des pesticides sur les populations d'arthropodes en vergers sera effectuée sur une ou plusieurs saisons de croissance (Hassan, 1985). Ces épreuves biologiques nous fournissent des informations clés pour mieux comprendre l'impact des pesticides lors des études sur le terrain. De plus, les tests en laboratoire permettent d'économiser temps et argent en sélectionnant dès lors les produits n'ayant aucun effet négatif sur les agents de lutte biologique. Ces expériences sont essentielles car les résultats qu'elles nous apportent sont souvent spécifiques à chaque pesticide et chaque espèce d'agent de lutte biologique.

La toxicité des pesticides a longtemps été rapportée par l'évaluation de la mortalité des femelles à la concentration létale médiane CL_{50} (Robertson et Worner, 1990; Starke et *al.*, 1997). Cependant, cette statistique ne porte que sur un seul stade de vie et s'effectue généralement sur une courte période (un à quatre jours). Elle est insuffisante pour bien décrire les effets toxicologiques d'un pesticide (Stark et Banken, 1999; Saenz-de-Cabezón Irigaray et *al.*, 2007). De plus, les pesticides appliqués ne doivent pas diminuer le pouvoir de lutte biologique des prédateurs. Il est possible d'utiliser des indicateurs complémentaires, comme par exemple en évaluant la capacité de prédation en observant le nombre d'œufs produits par les femelles ayant été accouplées (Ford et Giboney, 1980). L'étude des autres stades, notamment du stade larvaire, est importante. Ils sont en général plus sensibles aux pesticides et

l'on y observe une plus grande mortalité suite à une exposition de produits chimiques (Zhang et Croft, 1994).

Les caractéristiques nous permettant de distinguer les espèces peuvent être physiques ou métaboliques. Une différence enzymatique pourrait induire un niveau de tolérance ou de capacité de détoxification différent envers les molécules néfastes pour l'organisme. Dans ce sens, il ne serait pas rare d'observer que les effets toxiques d'un même pesticide varient entre les espèces apparentées d'acariens prédateurs. Il est donc important de ne pas généraliser trop rapidement un résultat spécifique à toute la famille des Phytoseiidae. Chaque espèce est susceptible de réagir différemment à un même produit. De plus, les populations d'une espèce pourraient réagir différemment d'une région à l'autre envers le même pesticide (James, 2003; Croft, 1990; Van-der Staay, 1991). Puisqu'il existe des différences physiologiques et comportementales d'une espèce à l'autre, il est nécessaire d'adapter les études en fonction des espèces et des caractéristiques des produits pour avoir la meilleure description des effets, sans résultats biaisés. Par exemple, les tests impliquant des prédateurs spécialistes, comme *G. occidentalis* et *N. fallacis*, doivent être adaptés pour l'apport de proies, puisse que ces espèces se nourrissent principalement de tétranyques vivants (Bostanian et *al.*, 2009c). Dans ces situations, il est important d'ajouter des proies de qualités faisant partie intégrante du régime alimentaire du prédateur. L'apport en nourriture est spécialement important lors d'épreuves biologiques impliquant des produits où le temps d'action est long ou lorsque ceux-ci ont un effet répulsif. Donc en considérant les caractéristiques des espèces étudiés, des pesticides, de leur mode d'action, des stades de vie exposés aux traitements (Saenz-de-Cabezón Irigaray et *al.*, 2007) et sur certains paramètres sous-létaux d'importance comme la reproduction, nous sommes en mesure d'effectuer des essais valides et ayant une bonne représentativité de l'impact réel des pesticides.

Il existe plusieurs méthodes réalisables en laboratoire pour tester les effets toxiques de produits chimiques sur les acariens. Ces expérimentations impliquent en premier lieu l'impact des pesticides sur la mortalité. D'autres expérimentations viennent par la suite, comme celles évaluant les impacts plus subtiles et effets sous létaux, comme les comportements de prédation. Pour évaluer la mortalité, il est possible d'utiliser la méthode de la lame immergée ou de la lame pulvérisée (où les acariens sont collés sur le dos), la méthode des feuilles détachées immergées ou pulvérisées, (où les acariens sont exposés ou non aux traitements et ensuite déposés sur une feuille de plante) et la méthode sur plaques de verre (Helle et Sabelis, 1985). Ces différentes techniques servent à mesurer les effets d'une exposition directe ou résiduelle des pesticides sur les acariens à l'étude. C'est la technique utilisant les feuilles détachées individuellement qui est devenue la plus populaire et la plus utilisée par les membres de l'Organisation internationale de lutte biologique et intégrée contre les animaux et les plantes nuisibles, Section régionale ouest paléarctique (OILB/SROP, en anglais IOBC/WPRS) (Bostanian et *al.*, 2009a). Cette méthode est simple, rapide et permet de mesurer la toxicité résiduelle. Cependant, cette technique comporte certains désavantages, notamment le haut taux d'individus disparus, (i.e. qui ne sont jamais retrouvés lors des observations) et n'est pas la plus appropriée pour les tests toxicologiques de pesticides où le temps d'action est long ou lorsque ceux-ci ont un effet répulsif (Bostanian et *al.*, 2009c).

D'autres méthodes ont été développées pour résoudre ces problèmes, comme la méthode des « coffin cells » (Bakker et *al.*, 1992). Ce procédé consiste principalement au cloisonnement des acariens traités sur un substrat inerte où il est virtuellement impossible de s'échapper (aucun trou ou espace qui permettrait aux acariens de sortir de la boîte de Pétri). Il est cependant très complexe d'ajouter des proies vivantes à l'intérieur lors de tests sur des prédateurs spécialistes, comme *G. occidentalis* et *N. fallacis*. Une modification de la technique utilisant les feuilles détachées a été développée par Bostanian et *al.* (2009c) pour tenter d'éliminer les

erreurs de type II (i.e. maintien de l'hypothèse nulle alors qu'elle est fausse). Ici, cette erreur consiste à affirmer qu'un produit est toxique alors qu'il ne l'est pas en réalité. En diminuant les risques d'erreur dans les épreuves biologiques, découlant du nombre d'individus qui s'échappent, nous augmentons notre précision dans la détection réelle des effets toxiques. Cette technique est plus adaptée pour la présente étude, où les observations pourront être faites sur plusieurs jours et où les proies pourront être facilement ajoutées. C'est une technique tout aussi rapide et beaucoup plus efficace qui prend compte les besoins des espèces et des particularités des pesticides de l'étude. De plus, il est possible avec cette technique d'étudier d'autres paramètres comportementaux plus subtils et autres effets sous létaux, comme des comportements de prédation par exemple.

1.5 Pesticides à l'étude

Les pesticides à toxicité réduite sont plus spécifiques et moins toxiques envers les utilisateurs que les insecticides à large spectre, comme les organophosphorés et les carbamates. Ces pesticides représentent un groupe diversifié de produits chimiques ayant une multitude de modes d'action, de cibles et une toxicité diverse envers les organismes utiles (Villanueva et Walgenbach, 2005). Nouvellement développés, certains de ces pesticides sont récemment homologués ou sont en voie de l'être. Il est donc important de procéder à l'évaluation de tels produits et ainsi connaître l'effet de chacun de ces pesticides pour le maintien des PLI.

1.5.1 Le chlorantraniliprole et le flubendiamide.

Le chlorantraniliprole et le flubendiamide font partie du groupe des diamides, plus précisément des anthranilic diamide. Les molécules provoquent la contraction du

corps en perturbant la fonction musculaire propre aux insectes. La contraction est complète et irréversible. Les symptômes sont provoqués par l'activation des canaux calciques intracellulaires sensibles à la ryanodine (récepteur ryanodine RyR). Les récepteurs ryanodines libèrent les ions de calcium du réticulum sarcoendoplasmique interne, ce qui provoque une contraction musculaire coordonnée et vigoureuse. Ils perturbent totalement la régulation du calcium du récepteur ryanodine par un mécanisme allostérique. Ce mécanisme est spécifique aux récepteurs ryanodines des insectes, car la molécule s'avère inactive contre les trois groupes de RYR des mammifères. (Ebbinghaus-Kintscher et *al.*, 2006; Lahm et *al.*, 2005; Cordova et *al.*, 2006).

Le chlorantraniliprole est considéré comme n'ayant pas d'effets nocifs pour l'humain et les vertébrés de la faune environnante, à l'opposé des arthropodes aquatiques. Il s'avère non toxique envers l'acarien prédateur *Typhlodromus pyri* (U.S. EPA, 2001a; Dinter et *al.*, 2008). De plus, Dupont CropScience a testé Altacor® sur *G. occidentalis* et ont établi qu'une application de 100 g i.a. /ha ne cause pas de mortalité (0-30%) sur les adultes (Sherrod, 2008).

Le flubendiamide semble ne pas affecter les autres organismes non-cibles. Des études écotoxicologiques ont été menées par Bayer CropScience et elles indiquent que le produit ne présente qu'un risque minime envers les organismes aquatiques, les oiseaux, les mammifères et d'autres arthropodes comme les abeilles domestiques et un prédateur Phytoseiidae, *T. pyri*. D'autres études ont aussi montrées que cette molécule n'a d'effets envers d'autres acariens prédateurs, notamment *Amblyseius cucumeris* et *Phytoseiulus persimilis* (au stade adulte CE₃₀ (≥ 200 mg i.a./l) (Tohnishi et *al.*, 2005).

1.5.2 Le spirotetramat

Le spirotetramat est un dérivé des acides tétroniques, plus précisément un ketoenole. Il agit comme inhibiteur d'acetyl CoA carboxylase et comme inhibiteur de lipogenèse, ce qui résulte en une baisse de lipides dans les insectes traités, empêchant la formation des régulateurs de croissance chez les jeunes et diminuant le pouvoir reproducteur des adultes (U.S. EPA, 2008). Il possède aussi un pouvoir acaricide. Bayer Crop Sciences a noté durant les tests écotoxicologiques que les acariens prédateurs sont les arthropodes terrestres les plus affectés par le spirotetramat (testé sur *T. pyri*). Cette molécule serait rapidement dégradée dans l'environnement, où son temps de demi-vie est de 8.6 jours. (Green, 2005; Fischer et Weib, 2008; Maus, 2008).

1.5.3 Le spinetoram

Le spinetoram est une nouvelle molécule de la classe des spinosyns. Créé à partir de la fermentation de *Saccharopolyspora spinosa* comme les autres spinosyns, sa synthèse est suivie d'une modification chimique qui crée une molécule photostable. Ce pesticide est utilisé comme insecticide de contact et résiduel. Le spinetoram a le même mode d'action que les spinosyns. La molécule cause une excitation du système nerveux de l'insecte en altérant les canaux ioniques nicotiniques et récepteurs GABA que l'on retrouve sur les dendrites. Cependant, cette molécule n'interagit pas avec les sites cibles des autres insecticides connus, comme les néonicotinoïdes (Dripps et *al.*, 2008).

Le spinetoram est considéré comme un insecticide à large spectre visant les lépidoptères (tordeuses), les diptères (drosophiles), les thysanoptère (thrips) et les

coléoptères (Crouse et *al.*, 2001). Ce produit a même des propriétés acaricides (El-Kady et *al.*, 2007).

1.5.4 Le novaluron

Le novaluron est une molécule qui agit comme inhibiteur de régulateur de croissance. Elle inhibe la formation de cuticule et provoque la mort durant la mue (U.S. EPA, 2001b). Étant un inhibiteur de régulateur de croissance des insectes, il est logique de penser que les individus au stade adulte seront moins affectés par ce pesticide. Nous pourrions nous attendre aux mêmes effets chez les acariens, dont le processus de mue implique aussi des hormones de croissance.

1.5.5 Le clothianidin

La molécule clothianidin appartient au groupe des nitroguanidines, un sous-groupe des néonicotinoïdes. Les néonicotinoïdes ont été développés pour agir comme un substitut de la nicotine, un insecticide naturel. Cette molécule cible et active les récepteurs d'acétylcholine postsynaptique (AChR), sans inhiber l'acétylcholinestérase (AChE). La molécule de clothianidin, comme les autres néonicotinoïdes, possède le même mode d'action. Elle est un antagoniste du neurotransmetteur acétylcholine. Les symptômes causés par ces produits s'apparentent à ceux de la nicotine. Ils causent une excitation des nerfs et, éventuellement, la mort. (U.S. EPA, 2003; Fishel, 2005).

Il a été aussi observé que le clothianidin est toxique envers les organismes aquatiques et les abeilles domestiques si elles sont exposées directement ou par contact résiduel. Ce produit possède une bonne persistance dans l'environnement (U.S. EPA, 2003).

1.6 Hypothèses

Le questionnement principal de l'étude est de savoir si les différents pesticides testés ont un effet toxique sur les agents de lutte biologique qui empêcherait ultimement leur potentiel de lutte biologique.

À la lumière des différentes informations consultées et des références citées, voici les hypothèses que je vérifierai, ainsi que certaines prédictions que j'avance. Elles seront testées sur deux modèles biologiques, soit les deux espèces sélectionnées précédemment.

1. Les acariens adultes exposés aux pesticides ont un taux de mortalité modulé en fonction du mode d'action respectif de ces produits.
 - **Prédiction :** En connaissant les modes d'action des différents pesticides et leur toxicité rapportée dans la littérature, la mortalité des acariens devrait être beaucoup plus importante après une exposition aux matières actives suivantes : spinetoram, spirotetramat et clothianidin.
2. L'état larvaire est le stade du cycle de vie des acariens le plus vulnérable à une exposition de pesticides.
 - **Prédiction :** La mortalité observée devrait être supérieure à celle observée chez les autres stades, puisque leur épiderme est moins épais et moins sclérifié. Les individus immatures, traités au novaluron, un inhibiteur de régulateur de croissance et au spirotetramat, un inhibiteur de lipogenèse et d'acétyl CoA carboxylase, devraient être plus affectés.

3. L'œuf est le stade du cycle le moins susceptible à une exposition de pesticides.

- **Prédiction :** Cette tolérance devrait se vérifier sur la mortalité à l'éclosion après un traitement de pesticides au stade œuf, mortalité qui serait plus faible que chez le stade adulte et larvaire. La coquille des œufs, augmentant la résistance aux conditions environnantes, diminuerait l'absorption des pesticides.

4. La fécondité des femelles acariens est diminuée suite à une exposition de pesticides.

- **Prédiction :** Nous devrions donc nous attendre à un nombre d'œufs pondus par femelle par jour inférieur dans le traitement au spirotetramat (un inhibiteur de lipogenèse) et les traitements qui ont démontré une toxicité importante au stade adulte. Les lipides étant importants dans la formation des œufs et impliqués dans la fertilité, il est possible que de tels produits soient néfastes (Helle et Sabelis, 1985).

1.7 Structure du document

Le document suivant comportera deux chapitres présentés sous la forme d'article scientifique. Ces papiers sont rédigés en anglais et ont été soumis à la revue scientifique *Chemosphere*. Chacun des chapitres décrit les effets des pesticides étudiés sur une des deux espèces des modèles biologiques. Nous aurons ainsi la possibilité d'avoir une validation supplémentaire des différentes hypothèses proposées. Chacun des chapitres apportera des informations complémentaires concernant les pesticides étudiés et la méthodologie utilisée. L'ensemble des

références utilisées sera compilé à la fin du document. Les tableaux associés à chacun des articles sont présentés à la fin de chacun des articles respectifs. Une description plus détaillée du modèle statistique probit utilisé et quelques analyses de comparaison complémentaires des effets toxiques des pesticides les plus toxiques sont présentées en annexe.

1.8 Contribution des coauteurs pour chacun des articles présentés

En ordre d'apparition :

Noubar J. Bostanian : Dû à sa grande expérience en acarologie et en évaluation toxicologique de pesticides en laboratoire, son expertise a été grandement sollicitée lors de l'élaboration du protocole ainsi que dans la rédaction. De plus, M. Bostanian a fourni le support financier ainsi que l'équipement nécessaire pour la réalisation de l'article

Howard M. A. Thistlewood : L'expertise de M. Thistlewood a aussi été sollicitée dans l'étape de rédaction et de corrections du Chapitre II. Son équipe de recherche a aussi participé à la récolte dans les vergers et l'envoi des individus de *G. occidentalis*.

Yves Mauffette : En tant que directeur, M. Mauffette a participé principalement à la formation académique de l'auteur principal et à la correction du manuscrit.

Gaétan Racette : Technicien de M. Bostanian, il a fourni un important support technique lors des épreuves biologiques et a participé à la validation de l'analyse statistique et à la correction du manuscrit.

CHAPITRE II

A LABORATORY ASSESSMENT OF THE TOXIC ATTRIBUTE OF SIX 'REDUCED RISK INSECTICIDES' ON *GALENDROMUS OCCIDENTALIS* (ACARI : PHYTOSEIIDAE)

Maxime Lefebvre¹, Noubar J. Bostanian¹, Howard M. A. Thistlewood³, Yves
Mauffette² and Gaétan Racette¹.

¹ Horticultural Research and Development Center, Agriculture and Agri-Food
Canada, 430 Gouin Blv., St. Jean-sur-Richelieu, Quebec, Canada J3B 3E6

² Université du Québec à Montréal, Département des sciences biologiques, C. P.
8888, Succ. A, Montréal, Québec, Canada H3C 3P8

³ Pacific Agri-Food Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Highway
97, Summerland, British Columbia, Canada V0H 1Z0

ABSTRACT

The 'modified excised leaf disc' method was used to measure the effects of six 'reduced risk' insecticides on eggs, larvae, adults, and female fecundity of *Galendromus occidentalis* (Nesbitt) in a 'worst case laboratory exposure'. This study identified compounds that would be recommended for tier II field evaluations for an integrated pest management program. Commercially formulated insecticides were applied with a thin-layer chromatography sprayer adjusted to 10.34 kPa (1.5 psi), at the recommended label concentrations in Canada. LC₅₀ values were estimated from aliquots above and below that concentration. Spinetoram and spirotetramat were toxic at label concentrations. The label concentration for spinetoram was 34.3-fold the LC₅₀ estimate (0.006 g/L) and for spirotetramat the label concentration was 7.7-fold the LC₅₀ estimate (0.03 g/L). Clothianidin was considerably less toxic and the label concentration was 0.15-fold the LC₅₀ estimate (2.29 g/L). Estimates of LC₅₀ for novaluron and chlorantraniliprole could not be established. Both materials showed slight toxicity to at least one growth stage of the predator. Novaluron, clothianidin and chlorantraniliprole should be evaluated in the field for compatibility in IPM programs. Flubendiamide was harmless to all growth stages, and it could be recommended immediately for inclusion in IPM programs. Field evaluations with spinetoram and spirotetramat should be pursued only if alternatives are unavailable.

KEY WORDS : chlorantraniliprole, flubendiamide, spirotetramat, spinetoram, novaluron, clothianidin.

2.1. Introduction

Synthetic chemical pesticides have been an essential tool of pest management since the discovery of DDT. Problems arising from misuse or complete reliance upon pesticides have promoted the search for more ecologically sound methods, notably integrated pest management (IPM), whereby pesticides are used in concert with non chemical means to manage pests (Hoy *et al.*, 1983). The correct integration of a pesticide with other management tactics is complex and requires an understanding of the toxicology with respect to the pest and the non-target species, particularly its natural enemies. In North American pome fruits, many arthropods including Lepidoptera, Curculionidae, Diptera and Hemiptera, are managed most effectively with insecticides. In contrast, phytophagous mites are managed by conserving predatory mite populations (Downing and Arrand, 1978). It is essential that novel pesticides developed against key pests or diseases of pome fruits are relatively harmless to the biological control agents of phytophagous mites (Gerson *et al.*, 2003).

The demise of organophosphate insecticides in horticultural crops has accelerated the development of novel compounds with 'reduced risk' to human health. These alternatives include neonicotinoids, diamides, benzoylureas, spinosyns and tetrionic acid derivatives. The 'reduced risk' alternatives are not always of lower risk to arthropods, particularly natural enemies, and may have variable effects (Bostanian *et al.*, 2009a; Bostanian *et al.*, 2009b).

Galendromus occidentalis (Nesbitt) (Acari : Phytoseiidae) is the key predator in the Okanagan valley in British Columbia (Canada) and the Pacific North West in the United States (Gerson et al., 2003; James, 2003). Few data are available concerning the impact of these 'reduced risk' insecticides on *G. occidentalis*. In Washington State, the effect of novaluron on *G. occidentalis* is classified as inconsistent. Furthermore, its use in orchards has precipitated mite problems. On the other hand, chlorantraniliprole and spirotetramat has low impact on *G. occidentalis* adults, whereas, spinetoram is moderately to highly toxic (Anonymous, 2010).

In earlier studies with neonicotinoid insecticides, imidacloprid was highly toxic to *G. occidentalis* and *Neoseiulus fallacis* (Garman) and moderately toxic to *Amblyseius andersoni* (Chant) (James, 2003). Similarly, thiacloprid was toxic to *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) but harmless to *N. fallacis* (Villanueva and Walgenbach, 2005) and *G. occidentalis* (Bostanian et al., 2009b). Spinosad, a spinosyn insecticide, was moderately toxic to deutonymphs of *A. cucumeris* (Lash et al., 2007) but non-toxic to adult *G. occidentalis* (Bostanian et al., 2009a) and *A. cucumeris* (Sang et al., 2005).

The toxic effect of an insecticide on an arthropod can be determined by the mortality of adult females at the median lethal concentration (Robertson and Worner, 1990; Stark et al., 1997). However, such tests on a single life stage provide only limited information on 'real-world' toxicity of a material (Stark and Banken, 1999;

Saenz-de-Cabezón Irigaray et al., 2007). Therefore, measuring the effects on female fecundity and on immature stages, as well as, adult mortality would provide a more complete understanding of the impact of insecticides on a heterogeneous population of a beneficial arthropod (Zhang and Croft, 1994).

In the present study, we evaluated contact and residual toxicity of clothianidin, chlorantraniliprole, flubendiamide, novaluron, spinetoram and spirotetramat, to eggs, larvae, adults and female fecundity of *G. occidentalis*, by a method providing ‘worst-case laboratory exposure’ (Bostanian et al., 2009a; Bostanian et al., 2009b). From the neonicotinoids available to Canadian fruit-growers, we chose clothianidin which is an agonist of acetylcholine receptors (nAChR), and chlorantraniliprole and flubendiamide as examples of diamides. These two compounds are ryanodine receptor modulators. We also selected novaluron, a benzoylurea that inhibits chitin biosynthesis, spinetoram which is a spinosyn. It disrupts the normal functioning of the nicotinic/gamma amino butyric and (GABA) – gated chloride channels (U.S. EPA, 2009). Spirotetramat is a ketoenole derivative of tetroneic acid and it inhibits acetyl CoA carboxylase (U.S. EPA, 2008). The results of this study will form the basis for further studies in the field to determine the suitability of these compounds in IPM programs in the Pacific North West of the North American continent.

2.2. Materials and Methods

2.2.1 Rearing of *G. occidentalis*

Galendromus occidentalis specimens were collected from an orchard in the Okanagan Valley, British Columbia in 2005, and reared continuously. The mites were reared on two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae) in a growth chamber set at 27°C, 65% relative humidity (RH) and 16:8 h light:dark photoperiod. The twospotted spider mites were reared on bush bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Strike planted in plastic trays, as described by Rock and Yeargan (1970). The identity of the predator culture was checked regularly using a compound microscope to ensure that contamination by other phytoseiid species had not occurred.

2.2.2 Insecticides and treatment methodology

Experimental units used in this study are described in Bostanian et al. (2009c). Apple leaves were cut into discs approximately 50 mm diameter and placed with their adaxial (upper) sides onto a thin bed of wet cotton (1.5 mm thick) in a 50 mm Petri dish. Strips of masking tape (160 mm long by 6 mm wide) were wrapped around the edges of Petri dishes to ensure a tight seal when the cover was placed. In order to prolong the freshness of the leaf, the petiole was conserved while cutting the

discs and allowed to protrude outside of the lower one half of a Petri dish through a small hole in the side wall. A circular window (28 mm diameter) was cut from the cover of the Petri dish to eliminate condensation. The inner edge of each window was covered with a thin coat of Tanglefoot[®] (Tanglefoot Co., Grand Rapids, MI, USA) to prevent the escape of mites. The unit (leaf disc, side walls, interior of Petri dish covers, prey and test predators) was treated in the following manner to mimic a 'worst case' laboratory exposure. Insecticides were applied with a thin-layer chromatography sprayer held perpendicular 20-25 cm away from the Petri dish and adjusted to 10.34 kPa (1.5 psi). At that pressure the amount of insecticide residue throughout the disc was 0.002 ml/cm².

The insecticides were : chlorantraniliprole 350 g kg⁻¹ WG (Altacor[®] 35 WG, Dupont Crop Protection); flubendiamide 480 g L⁻¹ SC (Belt[®] 480 SC, Bayer CropScience); clothianidin 500 g kg⁻¹ WDG (Clutch[®] 50 WDG, Bayer CropScience); spirotetramat 150 g L⁻¹ SC (Ultor[®] 150 SC, Bayer CropScience); spinetoram 250 g kg⁻¹ WG (Delegate[®] 25 WG, Dow AgroSciences) and novaluron 100 g L⁻¹ EC (Rimon[®] 10 EC, Makhteshim Agan of North America, Inc). The label concentrations g active ingredient (a.i.) ha⁻¹ used in Canada were converted to g a.i. L⁻¹ based on the application of 600 L sprayable material ha⁻¹. Treatments were carried out at recommended label concentrations and for estimation of LC₅₀ values, additional aliquots were prepared at multiples above and below the label concentrations.

The treated units were all kept in a growth chamber set at 24°C, 70% RH and 16L:8D h photoperiod. A preliminary study showed that mortality stabilized at different rates, so post-treatment observations were made at various times as appropriate : at 72 h post treatment for spinetoram, at 96 h post treatment for clothianidin and at 120 h for all remaining compounds. Those considerations give the opportunity to compare the complete and maximum effect on mortality of mites.

2.2.3 Treatment of eggs

Ten eggs (0-48 h old) of *G. occidentalis* were placed in a Petri dish onto an apple leaf disc infested with *T. urticae*. The *T. urticae* served as food for any larvae that might hatch. Treatments were applied and the number of live eggs and dead larvae were recorded for 120 h at every 24 h. Eggs that did not hatch or that were not found were considered dead (Zhang and Sanderson, 1990; Blümel and Hausdorf, 2002). Treatments were replicated five times : the first three replicates had 30 eggs each and the remaining two replicates had 50 eggs each, for a total of 190 eggs.

2.2.4 Treatment of larvae

Ten eggs of *G. occidentalis* were placed in a Petri dish onto an apple leaf disc with *T. urticae*. After 24 h, the number of hatched larvae was counted, any unhatched eggs were removed, and the larvae were treated at label concentration. Observations

of survival were made at 96 and 120 h post-treatment. Larvae not present on the leaf disc at the end of the test period were considered dead (Zhang and Sanderson, 1990; Blümel and Hausdorf, 2002). Treatments were replicated four times, with 7-44 larvae per replicate, for a total of 75-89 larvae per treatment.

2.2.5 Adult mortality and fecundity

Three *G. occidentalis* were placed into a Petri dish onto a leaf disc infested with sufficient *T. urticae* to feed until satiation. Additional *T. urticae* were added, as needed, but without leading to webbing in the dish. Each replicate consisted of 30 predators replicated three times.

Following insecticide treatments, observations were made at 24, 48 and 72 h for spinetoram, 24, 96 and 120 h for the remaining compounds. Specimens were considered dead when they had dry appearance or unable to move more than the half of their body length when probed with a camel-hair brush. Only the concentration response curve of clothianidin, spirotetramat and spinetoram would fit the probit model. LC_{50} values were estimated from three replicates. Each replicate of clothianidin, spirotetramat and spinetoram consisted of 20-31, 27-34 and 21-39 predators respectively.

For fecundity tests, 10-11 day old females were treated as described above. During observations, the number of eggs laid and the number of live females were recorded. The effects of spinetoram on fecundity could not be measured because no female survived to a treatment at field rate. The studies to measure the effects on fecundity were replicated four times each time with 30 mites.

All percentages of adult mortality were classified according to the following toxicity scheme : 0-24% slightly to non-toxic; 25-49% marginally toxic; 50-74% moderately toxic and 75-100% toxic (Unruh *et al.*, 2006). This classification is based on a scale first proposed by Hassan (1985).

2.2.6 Analysis of data

Mortality data were corrected according to Henderson and Tilton (1955), and LC_{50} values were estimated with Probit analysis using Polo PC (LeOra Software, 1987). In order to stabilize the variances, percent mortality data for eggs and larvae were transformed to arcsine prior to analysis of variance (Sokal and Rohlf, 1981; Howell *et al.*, 2007). Fecundity data were not transformed. Mean separation was carried out with ANOVA and the Tukey-Kramer test, using the JMP V5 software package (SAS Institute, 2002).

2.3. Results

The data in Table 2.1 show that spirotetramat, spinetoram and novaluron in descending order of toxicity significantly reduced the number of viable eggs. In contrast flubendiamide was totally innocuous. The adverse effects of clothianidin and chlorantraniliprole overlapped between novaluron and flubendiamide.

A similar pattern of toxicity was noted with young larvae (Table 2.2). Spirotetramat and spinetoram were grouped together as the most toxic. These two insecticides were followed by novaluron and clothianidin with less pronounced adverse effects. These inturns were followed by chlorantraniliprole and flubendiamide. Flubendiamide was virtually non-toxic and its very slight effect overlapped between the control and chlorantraniliprole.

Only two of the six 'reduced risk' insecticides were toxic to adult *G. occidentalis* according to our toxicity scheme. Spinetoram and spirotetramat caused 100% and 72.4% mortality, respectively (Table 2.3). We estimated the LC_{50} of these two insecticides and that of clothianidin (Table 2.4). The χ^2 for each of the three insecticides indicated that the data sets fit the assumptions of the Probit model. The g factor for spinetoram and spirotetramat were considerably < 0.5 indicating that the lethal concentration was within the limits of the confidence intervals (Robertson and Preisler, 1992). The g factor for clothianidin was $= 0.5$ and it was just acceptable.

Chlorantraniliprole, flubendiamide, novaluron were totally harmless to adults at label concentrations (Table 2.3). The label concentration of spinetoram was 34.33 fold the LC_{50} estimate and it was 7.69 fold the LC_{50} for spirotetramat (Table 2.4). The label concentration of clothianidin was 0.15 fold the LC_{50} estimate, and it caused only 12.2% adult mortality at the label concentration. According to our toxicity scale for adults, clothianidin is considered to be non-toxic for all practical purposes.

Spinetoram killed all the gravid females at the label concentration. Hence, it was impossible to measure its adverse effect on fecundity. Spirotetramat significantly affected fecundity from the first to the last observation made 120 h later (Table 2.5). Egg production was almost zero at 72 h post treatment. Clothianidin had also a negative effect on fecundity throughout the study period. Treated females produced ca. 58% less eggs than the control. Nevertheless, its effect was less pronounced than spirotetramat. Novaluron and flubendiamide also affected fecundity. However, the effect was transient and lasted only 24 h with complete recovery by 48 h. By contrast, chlorantraniliprole had no adverse effects on fecundity throughout the study.

2.4. Discussion

When we integrate the toxicity readings reported in Tables 2.1 to 2.5 we obtain an over whole picture describing the positive and negative attributes of each

compound. Spinetoram and spirotetramat affected harshly the viability of eggs, larvae and adults. The label concentration of spinetoram is 34.33 fold the LC_{50} estimate and 17.69 fold the LC_{50} estimate of spirotetramat. According to our toxicity scheme for adults, spinetoram is classified as toxic and spirotetramat as moderately toxic. These two compounds would be evaluated in a field setting only if alternatives products are unavailable.

Spinetoram is a broad spectrum insecticide synthesized by the fermentation of the actinomycete *Saccharopolyspora spinosa*, with some acaricidal properties (El-Kady et al., 2007; Crouse et al., 2001). Like other spinosyns, the mode of action is persistent activation of nicotinic acetylcholine receptors and prolongation of acetylcholine responses, in a manner that is distinct from other nicotinic active molecules. In addition, the spinosyns can also alter the function of GABA-gated chloride channels, again in a manner distinct from all known insect control agents. It acts on the insect central nervous system to increase spontaneous activity, leading to involuntary muscle contractions and tremors (Saldago, 1998). By contrast, the closely-related and widely-used material spinosad is non-toxic to *G. occidentalis* (Bostanian et al., 2009a), perhaps because it differs from other spinosyns by its combination of the chemically modified metabolites spinosyn J and L (Van Steenwyk and Dunley, 2008).

Spirotetramat is a ketoenole, a derivative of tetronic acid. It acts mostly by ingestion where it inhibits lipogenesis that leads to a diminution of growth regulators and of fertility (U.S. EPA, 2008). Toxic effects on *Typhlodromus pyri* Scheuten in the laboratory were reported by Maus (2008), who also noted that in vineyards, it appeared to be non-toxic to *T. pyri*. Spirodiclofen and spiromesifen are other examples of insecticides from the tetronic acid group. Spirodiclofen is non-toxic to *G. occidentalis* adults in the laboratory (Bostanian et al., 2009a). Spiromesifen was reported to decrease the longevity of *G. occidentalis* to 4 days and negatively affected fecundity and fertility (Saenz-de-Cabezón Irigaray and Zalom, 2006; Saenz-de-Cabezón Irigaray and Zalom, 2007).

Further scrutiny of Tables 2.1 to 2.5 shows that only flubendiamide is harmless to all life stages of *G. occidentalis*. The relative lack of toxicity of flubendiamide to phytoseiid mites has been reported earlier for *T. pyri* and *A. cucumeris* (Tohnishi et al., 2005). Flubendiamide, as well as chlorantraniliprole, are diamides and modulate the ryanodine receptor. In insects these receptors are 500 fold more sensitive than mammals (Cordova et al., 2006). Hence, compounds with this mode of action are very safe to users. The innocuousness of these compounds on adult predacious mites suggests that mite receptors may differ substantially from those in insects and may be insensitive to ryanodine modulators. This area of research requires further investigation.

In contrast to flubendiamide, chlorantraniliprole is marginally toxic to the young larvae, with toxicity overlapping that of clothianidin and flubendiamide (Table 2.2). It is harmless to eggs and adults (Tables 2.1 and 2.3) and it has no effect on fecundity (Table 2.5). Elsewhere, Dinter et al. (2008) reported chlorantraniliprole to be harmless to *T. pyri* adults.

The remaining two compounds novaluron and clothianidin affect egg and larval viability about the same extent (Tables 2.1 and 2.2). They are virtually non toxic to adults. Whereas novaluron reduces fecundity for only 24 h, clothianidin has a prolonged negative impact on fecundity, which is reduced by 58 %, 120 h following treatment.

Novaluron is a benzoylphenyl urea that inhibits the action of insect growth regulators. It stops cuticle production and causes death during ecdysis (U.S EPA, 2001b). It slowly kills immature insects, acting mostly by ingestion, but it has some contact activity.

Clothianidin is a nitroguanidine, a subgroup of the neonicotinoids. It acts agonistically at the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in the central nervous system of insects (Jeschke et al., 2003). It causes excitation of the nerves and eventual paralysis which leads to death (U.S. EPA, 2003; Fishel, 2005). Schmuck and Keppler (2003) reported low toxicity of clothianidin on *T. pyri*. In

Washington State, USA, Beers et al. (2005) had difficulties to arrive at a clear conclusion on the toxicity of clothianidin on *G. occidentalis* in field trials. They concluded a suppression of the predatory mite in four of six trials. Other neonicotinoids evaluated extensively for toxicity towards *G. occidentalis*, include imidacloprid, acetamiprid, thiacloprid and thiamethoxam. For example, James (2003) observed that imidacloprid was toxic in field conditions in Washington hop fields, and Bostanian et al., (2009a) reported from laboratory studies that imidacloprid and acetamiprid were very toxic, whereas thiacloprid and thiamethoxam were non-toxic.

2.5. Conclusion

Flubendiamide may be included in IPM programs immediately without additional tier II field evaluations. Spinetoram and spirotetramat are very harsh to all growth stages of *G. occidentalis* and adversely affect its fecundity. Field evaluations should only be pursued if alternatives are unavailable. Novaluron, clothianidin and chlorantraniliprole should be evaluated in tier II field evaluations taking into account their label claims and the ecology of the predator during the growing season to establish their compatibility in IPM programs.

2.6. Acknowledgement

The authors thank the manufacturers of the pesticides for free samples and interns from the Federal Public Sector Youth Internship Program of Canada, Erin McGregor, Rahel Buchmann, Isabelle Barriault, Philippe Langelier and Sophie Gagné. Hugh Philip (BC Ministry of Agriculture & Lands) kindly collected *G. occidentalis* from Kelowna, B.C., Canada. This study was carried out by Maxime Lefebvre in partial fulfilment of the requirements for a M. Sc. degree at UQAM (Université du Québec à Montréal). This study was financially supported by Agriculture and Agri-Food Canada.

Table 2.1 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides to *G. occidentalis* eggs.

Active ingredient	Trade name	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	Mortality ^b (%) (P < 0.0001)
Spirotetramat	Ultor 150 SC	0.228	90.4a
Spinetoram ^a	Delegate 25 WG	0.204	79.2b
Novaluron	Rimon 10 EC	1.165	32.8c
Clothianidin ^a	Clutch 50 WDG	0.350	21.9cd
Chlorantraniliprole	Altacor 35 WG	1.667	12.0cd
Flubendiamide	Belt 480 SC	0.987	8.8d
Water control	---	---	3.7d

^a Observation at 96 h; remainder at 120 h.

^b 30-50 eggs per replicate, five replicates for a total of 190 eggs per treatment. Percent mortality includes dead, not hatched, or missing eggs. Data were corrected according to the Henderson-Tilton (1955) formula. Data transformed to arcsine prior to ANOVA and Tukey-Kramer tests, $\alpha = 0.05$.

Table 2.2 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides to *G. occidentalis* larvae.

Active ingredient	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	n	Mortality (%) ^a (P < 0.0001)
Spirotetramat	0.228	80	100a
Spinetoram	0.204	78	95.8a
Novaluron	1.165	89	61.6b
Clothianidin ^b	0.350	89	40.6b
Chlorantraniliprole	1.667	75	33.9bc
Flubendiamide	0.987	80	11.9cd
Water control	---	87	9.2d

^a Percent mortality includes dead or missing larvae. Data were adjusted according to the Henderson-Tilton (1955) formula.

Data transformed to arcsine prior to ANOVA and Tukey-Kramer tests, $\alpha = 0.05$.

^b Observations made at 96 h, remaining at 120 h.

Table 2.3 Toxicity of six 'reduced risk' insecticides at multiples of the recommended label rates (X) to adult female *G. occidentalis*.

Active Ingredient	n	Mortality (%) ^a											
		8X	4X	2X	X	X/4	X/8	X/16	X/32	X/64	X/128	X/256	Water control
Chlorantraniliprole ^b	90				0								17.4
Flubendiamide ^b	93				0								17.4
Novaluron ^b	83				0								17.4
Clothianidin ^c	290	65.0	29.3	19.6	12.2		6.0						13.0
Spirotetramat ^b	504			89.2	72.4	55.6		42.9		21.1			13.2
Spinetoram ^d	475				100			85.6	52.9	14.9	6.3	0.7	16.0

^a Mortality data corrected according to the Henderson-Tilton (1955) formula.

^b n = observations made at 120 h.

^c n = observations made at 96 h.

^d n = observations made at 72 h.

Table 2.4 LC₅₀ estimates of three ‘reduced risk’ insecticides to adult female *G. occidentalis*.

Active Ingredient	n	Slope (± SE)	LC ₅₀ (95% CI)(g a.i. L ⁻¹)	df	χ ²	Heterogeneity	t ratio	g	Ratio [field] /LC ₅₀
Spinetoram ^a	455	3.516(± 0.576)	0.006 (0.005 – 0.007)	3	1.9997	0.45	6.107	0.10	34.33
Spirotetramat ^b	591	0.865(± 0.122)	0.030 (0.015 – 0.050)	3	2.8033	0.93	7.07	0.08	7.69
Clothianidin ^c	290	2.104 (± 0.757)	2.288 (1.597 – 7.497)	2	1.8205	0.91	2.779	0.50	0.15

^a = Observations made at 72 h.

^b = Observations made at 120 h.

^c = Observations made at 96 h.

Table 2.5 Effects of five 'reduced risk' insecticides on the fecundity of *G. occidentalis* at 24 h intervals.

Active ingredients	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	Mean number of eggs laid / female / Petri dish / day (n = live female) ^a				
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
		(P < 0.0001)	(P < 0.0001)	(P < 0.0001)	(P < 0.0001)	(P < 0.0001)
Spirotetramat	0.228	1.01d (123)	0.65c (75)	0.17d (28)	0.00c (13)	0.06d (9)
Clothianidin	0.350	1.74c (122)	1.05c (111)	1.35b (107)	1.02b (95)	1.07c (76)
Novaluron	1.165	1.94bc (114)	2.47b(110)	2.68ab (105)	2.70a (100)	2.21ab (97)
Flubendiamide	0.987	2.05bc (124)	3.04a (117)	2.32b (113)	2.67a (111)	1.89b (107)
Chlorantraniliprole	1.667	2.26ab (120)	2.76ab (116)	2.90a (114)	2.44a (112)	2.67a (106)
Water control	---	2.52a (124)	2.87ab (118)	2.45ab (111)	2.47a (103)	1.83b (85)

^a Means calculated from four replicates per treatment. Each replicate consisted of 40 females.

CHAPITRE III

LABORATORY ASSESSMENTS ON THE TOXICOLOGICAL ATTRIBUTES OF NEW INSECTICIDES ON MORTALITY AND FECUNDITY OF *NEOSEIULUS* *FALLACIS* (GARMAN) (ACARI : PHYTOSEIIDAE)

Maxime Lefebvre¹, Noubar J. Bostanian¹, Yves Mauffette² and Gaétan Racette¹

¹ Horticultural Research and Development Center, Agriculture and Agri-Food
Canada, 430 Gouin Blv., St. Jean-sur-Richelieu, Quebec, Canada J3B 3E6

² Université du Québec à Montréal, Département des sciences biologiques, C.P. 8888,
Succ. A, Montréal, Québec, Canada H3C 3P8

ABSTRACT

The Phytoseiidae *Neoseiulus fallacis* is one of the most abundant and beneficial predatory mites in North America. The 'modified excised leaf disc' method was used to elucidate the effects of six 'reduced risk insecticides' on eggs, larvae, adults and fecundity of *N. fallacis* in a 'worst case laboratory exposure'. The insecticides evaluated were : chlorantraniliprole, flubendiamide, spirotetramat, spinetoram, novaluron and clothianidin. Commercially formulated insecticides were applied with a thin layer chromatography sprayer set at 10.34 kPa (1.5 psi) at the recommended label concentrations. LC₅₀ values were also estimated to obtain an insight of the toxicity of each insecticide. Chlorantraniliprole and flubendiamide were totally innocuous to all growth stages and are recommended for inclusion in integrated pest management programs immediately. Novaluron, clothianidin, spinetoram and spirotetramat had at least a toxic attribute against one growth stage and are all recommended for field evaluations. The label concentration for spinetoram, was 14.02 fold the LC₅₀ (0.015 g a.i. l/L) and that of clothianidin was 6.09 fold the LC₅₀ (0.057 g a.i. l/L). Field evaluation should take into account the toxic attributes of these insecticides from this study, the label claims of these 'reduced risk insecticides' and the ecology of the predator.

KEY WORDS : chlorantraniliprole; flubendiamide; spirotetramat; spinetoram; novaluron; clothianidin.

3.1. Introduction

The predatory mite *Neoseiulus fallacis* (Garman) (Acari : Phytoseiidae) is the most abundant phytoseiid in the humid fruit orchards in central and eastern North America. Its territory extends from Ontario and Québec (Canada) in the North to North Carolina (U.S.) in the South (Farrier et al., 1980; Thistlewood, 1991; McMurtry et al., 1970). This species is distributed all around the world, in the Palearctic, Nearctic, Neotropical and Australian regions on shrubs, trees and truck crops (McMurtry and Croft, 1997). Classified as a type II predator, it feeds mainly on tetranychid mite species that produce dense webbing (McMurtry and Croft, 1997).

Among phytophagous tetranychids, the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch and the European red mite *Panonychus ulmi* (Koch) are the most difficult to manage in orchards. Several studies have reported the value of *N. fallacis* to control these pests in orchards (Gerson et al., 2003). This phytoseiid is efficient in reducing tetranychid populations to tolerable levels (Swift, 1970). Furthermore, it is resistant to organophosphate and carbamate insecticides and tolerant to pyrethroids used in orchards to manage other arthropod pests (Thistlewood et al., 1995). Consequently, Integrated Pest Management (IPM) programs have been established successfully since the 1970's in New Jersey (Swift, 1970), North Carolina (Rock, 1972), Michigan (Croft, 1975), New York (Weires et al., 1979), and Quebec (Bostanian et al., 2010). Managing phytophagous mites biologically in IPM programs

allows growers to save on acaricide costs and application time, in addition to reducing the environmental impact of acaricides on non-target arthropods and retards the development of resistance in phytophagous mite species (Bostanian et al., 1999).

With the demise of organophosphate insecticides, several new compounds with novel modes of action are being developed for use in orchards. These compounds are currently classified as 'reduced risk insecticides'. They may be safer to the user than older compounds. However, they may not totally be harmless to predators. Furthermore, the response of predacious mites to these insecticides has been varied. For example, among the neonicotinoids imidacloprid has been reported to be toxic to *Galendromus occidentalis* (Nesbitt), *N. fallacis* and moderately toxic to *Amblyseius andersoni* (Chant) (James, 2003). It has been reported to be non-toxic to *Agistemus fleschneri* Summers, a Stigmaeidae (Bostanian and Larocque, 2001) and the following phytoseiids : *Neoseiulus collegae* (De Leon), *Phytoseiulus macropolis* (Banks), *Proprioseiopsis mexicanus* (Garman) (Mizell and Sconyers, 1992), *Amblyseius womersleyi* Schicha (Leicht, 1993; Park et al., 1996) and *Typhlodromus pyri* Scheuten (Elbert et al., 1998). On *Amblyseius victoriensis* Womerley, it has not only been reported to be non-toxic, but it has even increased fecundity (James, 1997). This shows the toxicological variability of a product on different species. Spinosad another 'reduced risk insecticide' is a mixture of two macrocyclic lactones. It was non-toxic to *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) (Sang et al., 2005) and to *G. occidentalis* (Lash et al., 2007). Methoxyfenozide, a diacyhydrazine insecticide was

innocuous to adults and had no effect on fecundity (Bostanian et *al.*, 2010). These results indicate the need to evaluate the effects of these novel insecticides on each and every acarine biological control agent.

We report here the results on the contact and residual toxicity under ‘worst-case laboratory exposure’ of clothianidin, chlorantraniliprole, flubendiamide, novaluron, spinetoram and spirotetramat on eggs, larvae, adults and fecundity of *N. fallacis*. This is the first tier of a two tier evaluation program. The 2nd tier would be carried out in orchards taking into account the finding of this study along with the intended use of ‘the reduced risk insecticides’ and the abundance of the predator.

3.2. Materials and methods

3.2.1 Rearing of *N. fallacis*

Specimens of *N. fallacis* were collected from the Agriculture and Agri-Food Canada research orchard at Freligsburg, Quebec, Canada. They were known to be OP resistant and pyrethroid tolerant (Unpublished data). They had never been exposed to any of the ‘reduced risk insecticides’ to be evaluated in this study. *Neoseiulus fallacis* rearing was carried out in growth chambers set at 22 ± 1 °C and 70% relative humidity (RH) with a 16:8 light:dark (L:D) photoperiod. The predators were reared

on *T. urticae*. The *T. urticae* were reared on bush bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Strike planted in plastic trays in a growth chamber set at $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 80% RH and 16:8 L:D photoperiod.

3.2.2 Insecticides and treatment methodology

The ‘worst case laboratory exposure’ excised leaf method was used. In this protocole, the substrate, the cover of the Petri dishes, as well as, the target and its food (twospotted spider mite) were all treated (Bostanian et al., 2009c). Treatments were made with a thin-layer chromatography sprayer set at 10.34 kPa (1.5 psi) held perpendicular 20-25 cm away from the Petri dish. The tested insecticides were : chlorantraniliprole (Altacor[®] 35 WG, Dupont Crop Protection); flubendiamide (Belt[®] 480 SC, Bayer CropScience); clothianidin (Clutch[®] 50 WDG, Bayer CropScience); spirotetramat (Movento[®] 240 SC, Bayer CropScience); spinetoram (Delegate[®] 25 WG, Dow AgroSciences) and novaluron (Rimon[®] 10 EC, Makhteshim Agan of North America, Inc). The label concentrations expressed in g ha⁻¹ used in Canada were converted to g a.i. L⁻¹ based on the application of 600 L sprayable material ha⁻¹. The treated units were kept in a growth chamber set at 25°C, 82% RH and 16L: 8D h photoperiod. Preliminary data showed that mortality data stabilized at different rates. Consequently, a series of tests were carried out to determine the appropriate time to record mortality for each compound.

3.2.3 Treatment of eggs, larvae and adults.

Ten eggs (0-48 h old) were collected from the *N. fallacis* rearing trays and placed on a disc infested with *T. urticae* in a Petri dish. The methodology employed is described in Lefebvre et al. (2010). Adverse effects on eggs were recorded at 24 h intervals for 72 h. Experiments were replicated three times each time with 120 eggs. Adverse effects on larvae were recorded when the mortality had stabilized. This was 48 h for spirotetramat, 120 h for chlorantraniliprole, flubendiamide, novaluron and the control, 144 h for spinetoram and 168 h for clothianidin. Each replicate consisted of 34 to 50 larvae replicated three times. In adults mortality and fecundity observations were recorded every 24 h for 168 h. Experiments were replicated three times and each replicate consisted of ca 30 females adults. Observations for estimating LC_{50} values of spinetoram were made at 48 h post treatment and four replicates were used. Observations for estimating LC_{50} values of clothianidin were made at 144 h post treatment and for spirotetramat at 168 h post treatment. The last two insecticides were replicated five times.

3.2.4 Analysis of data

LC_{50} values were estimated on raw data with Probit analysis using Polo PC (LeOra Software, 1987). For additional statistical analysis mortality data were

corrected according to Henderson and Tilton formula (1955). Percent mortality data for eggs and larvae were transformed to arcsine prior to analysis of variance (Sokal and Rohlf, 1981; Howell et al., 2007). Fecundity data were transformed to logs prior to ANOVA. JMP Statistics and Graphics Guide were used for ANOVA and the Tukey-Kramer test for means separation (SAS Institute, 2002).

All percentages of adult mortality were classified on the following toxicity scheme : 0-24% non-toxic to slightly toxic; 25-49% marginally toxic; 50-74% moderately toxic and 75-100% toxic (Unruh, et al., 2006).

3.3. Results

All the insecticides evaluated except spirotetramat had virtually no effect on egg viability at label concentrations (Table 3.1). Compared with the other growth stages, it seems that eggs were more tolerant than other stages to these insecticides. On larvae, only flubendiamide and chlorantraniliprole were innocuous whereas, spirotetramat, spinetoram, clothianidin and novaluron were toxic (Table 3.2). On adults, spinetoram, clothianidin and spirotetramat caused 100%, 61.4% and 40.2% mortality respectively (Table 3.3). The label rates of these three insecticides were 14.02, 6.09 and 0.34 fold their LC_{50} values (Table 3.4). Flubendiamide and novaluron were harmless to adults (Table 3.3). In fecundity tests (Table 3.5), flubendiamide,

novaluron and chlorantraniliprole were never different from the control, throughout the study, except a very slight toxic effect was noted for novaluron and flubendiamide 96 h post treatment. In contrast, spirotetramat and clothianidin significantly reduced egg production throughout the study period. These two insecticides stopped almost completely egg production by 96 h and 120 h post treatment (Table 3.5). Observations continued for 168 h and no recovery was ever observed. No females survived spinetoram treatment. Hence it was not possible to carry out fecundity tests.

3.4. Discussion

Among the six ‘reduced risk insecticides’ evaluated only spirotetramat caused significant egg mortality. The remaining insecticides had no effect (Table 3.1). In *G. occidentalis*, in addition to spirotetramat, spinetoram and novaluron caused significant egg mortality (Lefebvre et al., 2010). Furthermore, using the same techniques Lefebvre et al. (2010) had reported that spinetoram was 10 fold more toxic to the eggs of *G. occidentalis* than the eggs of the *N. fallacis*. The toxicity data on larvae shows spirotetramat, spinetoram, novaluron and clothianidin significantly caused larval mortality. When compared with toxicity data on larvae of *G. occidentalis*, we note the same toxicity pattern. Spirotetramat is the most toxic, whereas chlorantraniliprole is the least toxic (Lefebvre et al., 2010). On Table 3.3 adult mortality is reported for *N. fallacis* and spinetoram is the most toxic followed by

clothianidin and spirotetramat in descending order of toxicity. Spinetoram is a spinosyn with some acaricidal attributes (Crouse et al., 2001; El-Kady et al., 2007). Clothianidin is a neonicotinoid. It acts agonistically at the postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in the central nervous system of insects (Jeschke et al., 2003). Schmuck and Keppler (2003) reported low toxicity of this insecticide to *T. pyri*. Spirotetramat is a ketoenole derivative of tetroneic acid. It inhibits lipogenesis that leads to a diminution of growth regulators and fertility (U.S. EPA. 2008). It has a short half life of 8.6 days in the field (Maus, 2008). Hence, even though it causes 100% adult mortality and it affects adversely all the different growth stages, including fecundity. It may be possible to include it in an IPM program where *N. fallacis* is the key predator. This is because *N. fallacis* overwinters in the ground cover, and it climbs into the canopy sometime in early July. Therefore, since the half life of spirotetramat is only 8.6 days it may be possible to use it in early season treatment and the insecticide would dissipate by early July.

Of the remaining three insecticides novaluron significantly affects adversely the larval stages of *N. fallacis* whereas chlorantraniliprole and flubendiamide are totally innocuous to all growth stages and have no adverse effects on fecundity. Novaluron is a benzoylphenyl urea that interferes with the action of insect growth regulators. It arrests cuticle production during ecdysis and causes death (U.S. EPA, 2001b). Chlorantraniliprole and flubendiamide are diamides and modulate the

ryanodine receptors. Dinter et al. (2008) reported chlorantraniliprole to be innocuous to *T. pyri* adults. An overview summarizing the results of this study is reported in Table 3.6.

3.5. Conclusion

Chlorantraniliprole and flubendiamide are totally harmless to all the growth stages and have no adverse effects on fecundity. Therefore, they may be included in IPM projects immediately without further field studies. Novaluron, clothianidin, spinetoram have one harmful attribute against at least one growth stage and should be evaluated in the field with full consideration of their use pattern, their toxic attributes and the ecology of the predator. To these three 'reduced risk insecticides', we would also suggest field evaluation of spirotetramat that affected adversely all the growth stages, as well as, the fecundity of *N. fallacis*. This is because it has a half life of only 8.6 days and if applied early in the season (pre-bloom to petal fall) it may be possible to integrate it into an IPM program when most of the *N. fallacis* are still on the ground cover. In Quebec *N. fallacis* climb into the tree canopy in early July, which is on average about 30 days after petal fall.

3.6. Acknowledgement

The Authors would like to thank the manufacturers for generously providing samples of the pesticides tested. Thanks are also extended to interns from the Federal Public Sector Youth Internship Program of Canada, to Université de Changin (Switzerland) and ISARA-Lyon (France). This study was carried out by Maxime Lefebvre in partial fulfilment of the requirements of a M. Sc. degree at UQAM (Université du Québec à Montréal).

Table 3.1 Toxicity of six 'reduced risk insecticide' on *Neoseiulus fallacis* eggs at 72 h post treatment.

Active ingredient	Trade name	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	Mortality (%) ^a (P < 0.0001)
Spirotetramat	Movento 240 SC	0.1740	37.6 a
Spinetoram	Delegate 25 WG	0.2042	7.8 b
Novaluron	Rimon 10 EC	1.1650	3.3 bc
Clothianidin	Clutch 50 WDG	0.3501	0.0 c
Chlorantraniliprole	Altacor 35 WG	1.6667	0.0 c
Flubendiamide	Belt 480 SC	0.9874	0.0 bc
Control	---	---	6.4 bc

^a 40 eggs per replicate, replicated three times for a total of 120 eggs per treatment.

Mortality data include dead, unhatched and missing eggs, as well as dead larvae. Percent mortality corrected according to Henderson-Tilton (1955). Statistical analyses were carried out on arcsine transformed data.

Table 3.2 Toxicity of six 'reduced risk insecticide' on *Neoseiulus fallacis* larvae.

Active ingredients	Trade name	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	n	Mortality (%) ^a (P < 0.0001)
Spirotetramat	Movento 240 SC	0.1740	111	100.0a
Spinetoram	Delegate 25 WG	0.2042	122	92.0ab
Novaluron	Rimon 10 EC	1.1650	123	89.7b
Clothianidin	Clutch 50 WDG	0.3501	126	78.3c
Chlorantraniliprole	Altacor 35 WG	1.6667	133	9.8d
Flubendiamide	Belt 480 SC	0.9874	144	10.5d
Control	---	---	140	12.9d

^a Mortality data include dead and missing larvae. Percent mortality calculated according to the Henderson-Tilton (1955).

Statistical analyses carried out on arcsine transformed data.

Observations for spirotetramat were made at 48 h; chlorantraniliprole, flubendiamide, novaluron and the control at 120 h; spinetoram at 144 h and clothianidin at 168 h.

Table 3.3 Mortality of *Neoseiulus fallacis* adults to different concentrations of six 'reduced risk insecticides'.

Active ingredients	Mortality (%) ^a													
	8X	4X	2X	X	X/2	X/4	X/8	X/12	X/16	X/32	X/48	X/64	X/128	Control
Chlorantraniliprole ^b				0										14.7
Flubendiamide ^b				4.7										14.7
Clothianidin ^c		83.9	64.6	61.4	59.0	50.0			40.3	34.8		13.9		4.6
Spinetoram ^d				100			81.9	54.2	39.2	12.8	8.6	0.8		2.5
Spirotetramat ^e	58.9		47.3	40.2	28.7		12.5							5.9
Novaluron ^f				4.8										14.7

^a Percent mortality corrected according to Henderson-Tilton (1955).

^b n = 82, observation made at 168 h.

^c n = 433, observation made at 144 h.

^d n = 470, observation made at 48 h.

^e n = 430, observation made at 168 h.

^f n = 79, observation made at 168 h.

Table 3.4 LC₅₀ estimates for 'worst-case laboratory exposure' of three 'reduced risk insecticides' on *Neoseiulus fallacis*.

Active ingredients	n	Slope (± SE)	LC ₅₀ (95% CI)(g a.i. L ⁻¹)	df	χ ²	Heterogeneity	t ratio	g	Ratio [field]/LC ₅₀
Clothianidin ^a	433	0.675 (±0.970)	0.057 (0.033 – 0.094)	3	2.508	0.84	6.940	0.080	6.09
Spinetoram ^b	470	3.131 (± 0.371)	0.015 (0.013 - 0.017)	4	3.807	0.95	8.432	0.054	14.02
Spirotetramat ^c	430	0.745 (± 0.122)	0.506 (0.314 – 0.956)	3	1.993	0.66	6.121	0.103	0.34

^a = Observation made at 144 h.^b = Observation made at 48 h.^c = Observation at made 168 h.

Table 3.5 Toxic effects of five 'reduced risk insecticides' on the fecundity of *Neoseiulus fallacis* at 24 h intervals.

Active ingredients	Concentration (g a.i. L ⁻¹)	Mean number of eggs laid / female / Petri dish / day (n = live female) ^a							
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h	
		(P<0.0001)	(P<0.0001)	(P<0.0001)	(P<0.0001)	(P<0.0001)	(P<0.0001)	(P<0.0001)	
Spirotetramat	0.1740	1.58b (82)	0.07b (74)	0.01b (61)	0.00c (50)	0.00b (42)	0.00b (31)	0.00b (24)	
Clothianidin	0.3501	1.78b (82)	0.19b (67)	0.01b (53)	0.05c (47)	0.00b (44)	0.00b (35)	0.00b (25)	
Novaluron	1.1650	2.37a (79)	2.81a (74)	2.90a (69)	2.79b (69)	3.20a (69)	3.12a (67)	2.52a (65)	
Flubendiamide	0.9874	2.41a (82)	2.97a (80)	2.90a (78)	2.88b (76)	3.30a (73)	3.10a (69)	2.85a (67)	
Chlorantraniliprole	1.6667	2.38a (82)	3.13a (81)	2.84a (81)	2.90ab (78)	3.06a (77)	2.80a (74)	2.65a (73)	
Control	---	2.77a (76)	3.24a (76)	3.25a (74)	3.37a (73)	3.14a (71)	3.31a (65)	3.14a (62)	

^a 30 females per replicate, three replicates per treatment, Statistical analyses were performed on log transformed data.

Table 3.6 Summary of the effects of six 'reduced risk insecticides' on *Neoseiulus fallacis*.

Active ingredients	Eggs	Larvae	Adults ^a	Fecundity
Spirotetramat	Marginally toxic	Toxic	Marginally toxic	Toxic
Spinetoram	Non toxic	Toxic	Toxic	NA
Clothianidin	Non toxic	Toxic	Moderately toxic	Toxic
Novaluron	Non toxic	Toxic	Non toxic	Non toxic
Chlorantraniliprole	Non toxic	Non toxic	Non toxic	Non toxic
Flubendiamide	Non toxic	Non toxic	Non toxic	Non toxic

^aToxicity classified as follows : 0-24% non-toxic to slightly toxic; 25-49%

marginally toxic; 50-74% moderately toxic and 75- 100% toxic.

CONCLUSION

L'étude a permis l'obtention d'informations essentielles maintenant disponibles pour la communauté scientifique et les agronomes travaillant dans le domaine de la lutte intégrée. Nous savons dès lors que l'ingrédient actif spinetoram est hautement toxique et incompatible avec la lutte biologique des Phytoseiidae et ne devrait pas être utilisée dans ce contexte sauf s'il n'existe pas d'autres alternatives. Les conclusions sont différentes concernant les ingrédients actifs spirotetramat, clothianidin et chlorantraniliprole. Le spirotetramat devrait être évité en présence de *G. occidentalis* et le clothianidin en présence de *N. fallacis*. Le chlorantraniliprole est beaucoup moins nocif que ces trois produits, mais provoque quand même une légère mortalité des larves de *G. occidentalis*. Chez *N. fallacis* ce pesticide est totalement inoffensif. Le novaluron a une toxicité intermédiaire chez les deux espèces à l'étude et le flubendiamide est non toxique dans tous les tests réalisés lors du projet.

La comparaison des effets toxiques faite au Chapitre III (détails en Annexe II) nous aide à vérifier l'hypothèse 1. Comme prédit, la mortalité des femelles adultes semble être modulée en fonction des différents modes d'action des matières actives des pesticides. Les diamides, modulateurs des récepteurs de ryanodine, ne semblent provoquer aucun effet toxique chez les acariens adultes. Ce mode d'action est testé par deux pesticides différents sur deux modèles biologiques. Les conclusions que l'on peut en tirer n'en sont que plus valables. Nous avons testé aussi un membre de la classe des néonicotinoïdes, le clothianidin. Nous avons observé chez les Phytoseiidae testés qu'ils sont sensibles aux antagonistes du neurotransmetteur acétylcholine. Cependant, d'autres études rapportent des résultats différents au niveau de la toxicité des néonicotinoïdes. Certains de ces produits n'ont aucun effet nocif envers les acariens. D'autres sont hautement toxiques. La molécule spinetoram, agissant comme

activateur allostérique des récepteurs nicotiniques d'acétylcholine est hautement toxique aux acariens adultes. Ici aussi, une autre spinosyn avec le même mode d'action, le spinosad, provoque une mortalité différente chez les acariens. Les inhibiteurs de la biosynthèse de la chitine ne semblent pas affecter les acariens adultes. Le spirotetramat agissant comme inhibiteur d'acétyl CoA carboxylase, de synthèse de lipides et de régulateur de croissance, provoque une grande mortalité chez les acariens. La variabilité observée dans la mortalité des acariens envers un mode d'action provient probablement d'autres paramètres qui devraient être considérés, comme les attributs intrinsèques des espèces et de chaque pesticide. Il serait intéressant de tenter d'éclaircir le problème de toxicité différente par une méta-analyse considérant plusieurs attributs des espèces et des pesticides. De cette façon, il serait possible de prévoir certaines réactions et nous pourrions ainsi attribuer dès lors la compatibilité de certaines espèces sensibles envers certains modes d'action ou type de pesticides.

Nous confirmons aussi à l'aide de l'étude les hypothèses 2 et 3. Les larves ont montré une sensibilité plus élevée que les autres stades alors que l'œuf est le stade le plus résistant. Dans un contexte général, il est essentiel de considérer les effets globaux des pesticides pour tenter de prévoir leur impact sur des populations entières. Enfin, l'hypothèse 4 ne peut être confirmée et demande un certain ajustement pour représenter les résultats obtenus. Il serait préférable d'affirmer que la fécondité est modulée en fonction des différents modes d'action des pesticides, comme pour la mortalité des adultes. Nous avons observé que les modes d'action comme les inhibiteurs d'acétyl CoA carboxylase, de synthèse de lipides et de régulateur de croissance et les antagonistes du neurotransmetteur acétylcholine ont un impact négatif significatif sur la ponte. Cette nouvelle formulation de l'hypothèse 4 est plus précise et représente mieux la réalité, puisque certains pesticides comme les diamides n'ont eu aucun impact sur la fécondité des femelles acariens.

L'étude a permis d'atteindre l'objectif principal et ouvre les portes à des études futures. Notre étude a permis de mettre en évidence des informations qui n'auraient pas été possibles de vérifier sur le terrain comme, par exemple, à quel stade survient la mortalité. Le financement du projet a impliqué différentes équipes de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada dans une perspective de description des effets *in vivo* et *in situ*. L'évaluation en vergers peut donc être entreprise pour les pesticides de l'étude qui ont démontré seulement une toxicité intermédiaire sur *N. fallacis* et/ou *G. occidentalis*.

ANNEXE I

MODÈLE STATISTIQUE PROBIT UTILISÉ DANS L'ÉTUDE

A.1 Analyse statistique

A.1.1 Modèle général : Régression d'une variable réponse binaire en relation avec une variable explicative

Ce modèle statistique est semblable à tous les genres d'analyses statistiques des épreuves biologiques qui incluent une gamme de doses administrées à chaque sujet dont la réponse mesurée est binaire (Oui/non, mort/vivant) après un temps spécifique déterminé. La représentation statistique d'une réponse binaire à une variable explicative est montrée à l'équation 1.

$$P_i = F(\alpha + \beta x_i) \quad (1)$$

Ou P_i est la probabilité de réponse, x_i la i -ème dose, F est la distribution cumulative de la fonction et $(\alpha + \beta x_i)$ est la droite de régression. Dans la majorité des cas, les données devront être transformées en logarithme pour s'ajuster au modèle linéaire afin de conduire des tests de comparaison valable. Dans les épreuves biologiques à réponse binaire, il existe une probabilité de réponse correspondante proportionnelle à la valeur de la dose pour chaque point de l'axe des abscisses. La dose qui correspond à une valeur précise de probabilité est appelée dose létale pour cette dose (exemple : dose létale 50 (DL₅₀) correspond à la dose qui correspond à une

probabilité de 50% de réponse). Comme mentionné plus haut, dans le contexte de notre étude, nous utiliserons la nomenclature concentration, au lieu de dose, puisque nous ne connaissons pas la quantité exacte d'ingrédient actif ingéré et/ou absorbé par chaque individu. La réponse est plutôt associée à l'application d'une concentration sur chaque unité expérimentale. De plus, puisque nous utilisons un modèle statistique pour obtenir la concentration létale médiane, nous obtenons une **estimation** de cette concentration (Robertson et *al.*, 2007).

Les différents postulats de base des régressions linéaires simples en général sont les suivants : (1) Linéarité de la relation (Dans le modèle présenté, la relation est linéaire entre la probabilité de réponse et le logarithme de la concentration), (2) Indépendance des résidus (Nous verrons plus loin comment standardiser les résidus pour pallier au fait que la variance est dépendante de la variable explicative), (3) La variable explicative ne contient pas d'erreur sur la mesure (Dans les épreuves biologiques, les mesures de concentrations des pesticides est faite pour minimiser ces erreurs), (4) Normalité de la distribution des résidus et (5) homoscedasticité des résidus. La standardisation des résidus et une analyse visuelle nous permettent de vérifier si les données respectent ces postulats.

A.1.2 Analyse statistique Probit ou Logit

Les deux types de distributions cumulatives retrouvées dans les épreuves biologiques sont les distributions normale et logistique. La distribution normale est associée à l'analyse Probit tandis que l'analyse Logit est associée à la distribution logistique. Le modèle Probit est représenté comme :

$$P_i = \Phi(\alpha + \beta x_i) \quad (1)$$

Où Φ est la distribution normale et P_i la probabilité de réponse. Les paramètres α et β sont l'intercepte et la pente de la ligne de régression. Le modèle Logit est représenté comme :

$$P_i = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \beta x_i)}} \quad (2)$$

Où $e = 2,71828$. Un débat est toujours en cours en ce qui concerne l'utilisation de l'une ou l'autre des distributions. Les entomologistes ont toujours eu tendance à utiliser les analyses Probit, à l'opposé de d'autres statisticiens qui prônent l'utilisation la distribution logistique. Le débat est difficile à trancher parce que les résultats obtenus à la suite des deux types d'analyses sont très similaires, à l'exception des extrémités absolues des courbes.

Un seuil arbitraire a été fixé par Robertson et *al.* (1984) en ce qui concerne le nombre de sujets à tester. Ils ont estimé que 240 individus constituent une bonne représentativité et offre des statistiques solides. Il n'y aurait pas de gain substantiel entre 240, 500 ou 800 individus qui justifierait l'effort additionnel. En pratique, un minimum de cinq doses est requis, ayant un pourcentage de réponse entre 10 et 90% (Robertson et *al.*, 2007). Il est aussi pratique courante de cumuler les données des différents réplicats pour une même dose. Le logiciel Polo Pc traite les deux types de présentation. Toutefois, chacune des analyses fournira des valeurs différentes pour les tests de validité de l'ajustement (Goodness of fit). Nous utiliserons les deux façons de procéder pour comparer les méthodes et les critiquer.

Les calculs et équations présentés ci-dessous sont valides et utilisés pour l'analyse Probit ou Logit, ou toutes autres relations binaires semblables.

Un test de t sera effectué sur la valeur de la pente pour savoir si la régression est significative. **Si la valeur de t est inférieure à 1.96, la régression n'est pas significative.**

Les hypothèses pour un test de t pour régression sont :

$$H_0 : \beta_1 = 0$$

$$H_1 : \beta_1 \neq 0$$

La valeur de t est égale à : $t = \beta_1 / \text{erreur type}$.

La prochaine étape est de comparer la valeur de t avec 1,96. Si $t < 1,96$, H_0 n'est pas rejeté au seuil $\alpha = 0,05$. Il n'y a donc pas de relation entre la mortalité et la concentration (Robertson. et *al.*, 2007)

Afin d'estimer la correspondance des résultats obtenus avec le modèle théorique, un test de χ^2 est effectué. Les hypothèses d'un test de χ^2 sont :

H_0 : Les données suivent la distribution spécifiée.

H_1 : Les données ne suivent pas la distribution spécifiée.

La valeur de χ^2 est calculée comme suit :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k (O_i - E_i)^2 / E_i \quad (3)$$

où O_i est la fréquence des observations i et E_i est la fréquence des valeurs attendus i .

$$E_i = N(F(Y_u) - F(Y_l)) \quad (4)$$

où F est la distribution cumulative spécifiée, ici normale, Y_u est la limite supérieure des classes i , Y_l est la limite inférieure des classes i , et N est l'effectif. **Si la valeur du**

χ^2 calculée est inférieure à la valeur du χ^2 théorique au seuil de probabilité de 0.05, à n-2 degré de liberté, les données s'ajustent bien au modèle théorique. Les estimations sont valides.

Un paramètre supplémentaire qui valide l'ajustement des données au modèle est un facteur d'hétérogénéité qui correspond à la valeur du χ^2 divisée par le nombre de degré de liberté, c'est-à-dire le nombre de classe - 2, en excluant la classe témoin. Il est utilisé pour corriger les erreurs standards des paramètres estimés. **Si ce facteur est supérieur à 1, les données ne sont pas bien ajustées au modèle.**

L'indice de signification pour l'estimation de la force du modèle (g) est utilisé dans les calculs des intervalles de confiance. **Une valeur de g supérieur à 1 indique que la moyenne pourrait se retrouver en dehors des limites.** Dans ces situations, une analyse des résidus pourrait donner une explication de la raison du mauvais ajustement des données au modèle. Parce que une variable binaire ne possède pas une variance constante tout au long des différentes valeurs de x, les résidus doivent être standardisés à l'aide d'une division par leurs erreurs standards, $\sqrt{np(1-p)}$, où n est le nombre de sujets testés et p la probabilité de réponse. Les résidus standardisés qui se retrouvent près de 0, entre les valeurs de 2 à -2 représentent un bon ajustement.

A.1.3 Les rapports de concentrations létales :

La façon habituelle de comparer la toxicité de différents produits est l'utilisation des rapports des doses létales. La comparaison est possible même si l'hypothèse de parallélisme des courbes n'est pas respectée. Il est très rare que les courbes soient parallèles lors d'épreuves biologiques avec divers pesticides avec différents modes d'action et entre populations d'insectes où le processus de résistance

est commencé. Un simple rapport n'inclurait aucun estimé de la variabilité des valeurs calculées. La façon courante de procéder est d'estimer l'intervalle de confiance à 95% de chaque valeur. Les calculs sont faits à l'aide des ordonnées à l'origine (α_i), des pentes β_i où $i = 1$ et 2 , et des estimés de la matrice de variance-covariance de ces paramètres :

1. Calculer :

$$\hat{\theta}_i = \frac{x_\pi - \hat{\alpha}_i}{\hat{\beta}_i} \quad (5)$$

Où x_π est le π -ème point percentile de la courbe de distribution Probit. C'est-à-dire que le calcul d'un rapport de la CL_{50} s'effectue avec $x_\pi = 0$. Les valeurs des plus grands intérêts sont :

π	10	25	50	75	80	90	95	97.5	99
x_π	-1,28	-0,67	0	0,67	0,84	1,28	1,65	1,96	2,33

2. Calculer :

$$\text{var}(\hat{\theta}_i) = \frac{1}{\hat{\beta}_i^2} \left[\text{var}(\hat{\alpha}_i) + 2\hat{\theta}_i \text{cov}(\hat{\alpha}_i, \hat{\beta}_i) + \hat{\theta}_i^2 \text{var}(\hat{\beta}_i) \right] \quad (6)$$

3. Calculer :

$$a = \hat{\theta}_1 - \hat{\theta}_2 \quad (7)$$

Et

$$\sigma = \sqrt{\text{var}(\hat{\theta}_1) + \text{var}(\hat{\theta}_2)} \quad (8)$$

4. Estimé des rapports des doses ainsi que les limites de l'intervalle de confiance.

$$\text{Ratio} = 10^a \quad (9)$$

$$\text{Limite inférieure} = 10^{a-2\sigma} \quad (10)$$

$$\text{Limite supérieure} = 10^{a+2\sigma} \quad (11)$$

(Série de calculs tirée de Robertson et *al.*, 2007)

A.1.4 Tests d'hypothèses :

Pour comparer les différentes courbes faites à l'aide d'analyse Probit, il est essentiel d'utiliser des tests statistiques pour avoir plus de pouvoir de détection des différences.

A.1.4.1 Comparaison des droites de régressions :

Il est possible de comparer les ordonnées à l'origine et les pentes de différentes courbes pour détecter une différence. Trois hypothèses sont utilisées : les droites sont parallèles, mais pas égales, (2) les droites sont égales (3) les droites sont ni égales, ni parallèles. Les droites sont considérées parallèles lorsque l'on ne détecte pas de différence significative entre les valeurs de pente. Biologiquement, les valeurs de pente reflètent un changement dans l'activité (la réponse) des organismes par unité

de concentration ou de dose. L'ordonnée à l'origine reflète plutôt la réponse des organismes sans le traitement à l'étude (ici la mortalité naturelle du témoin). Si l'ordonnée à l'origine et la pente ne sont pas différentes significativement, les droites sont considérées comme égales. Enfin, Si les deux paramètres sont significativement différents, les deux droites sont uniques.

Les hypothèses de parallélisme et d'égalité sont testées avec les rapports « likelihood » (LR). Les degrés de liberté des LR sont égales au nombre de paramètre par droites (= 2, ordonnée à l'origine et la pente), multiplié par le nombre totale de droite à tester, moins le nombre de paramètre dans la première droite, utilisée comme comparaison. Dans les tests LR de parallélisme, les pentes et droites individuelles de chaque expérimentation sont par défaut les mêmes, chaque droite est donc comparée avec la droite principale. Le degré de liberté dans ce test est égale au nombre de droites moins 1. Un teste de χ^2 est alors effectué pour vérifier si la probabilité est supérieure au seuil 0.05. Si oui, l'hypothèse n'est pas rejetée et les paramètres testés sont considérés comme non différents.

A.1.4.2 Comparaison des points estimés sur la courbe :

La façon classique de comparer deux valeurs de la CL_{50} par le passé était de comparer les valeurs avec leur intervalle de confiance. Si ces intervalles se chevauchaient, il n'y avait pas de différence. Cependant, puisque cette méthode manque de pouvoir statistique, il est recommandé d'utiliser la façon suivant : Calculer le rapport des deux concentrations létales et l'intervalle de confiance comme montré dans la section 4.3.3.3. **Si les intervalles de confiance incluent 1 lorsque nous les arrondissons au nombre entier le plus près, les valeurs de concentration létale ne sont pas significativement différentes** (Robertson et *al.*, 2007).

A.1.5 Logiciels utilisés :

Nous utiliserons deux logiciels spécialisés dans l'analyse Logit et Probit qui se nomme Polo-PC et Polo-Plus. Polo- PC a été développé par LeOra Software en 1987 pour calculer automatiquement les différents paramètres et équations qui se retrouvent dans Finney's *Probit Analysis* (1978). Polo-Plus 2.0 est la version améliorée et plus récente de Polo-PC, où des détails inutiles des sorties de réponse ont été enlevés (Robertson et *al.*, 2002). Des fonctions très utiles ont été ajoutées, comme la représentation graphique du modèle et des résidus, des sorties pour les tests de parallélisme et d'égalité, de même que les rapports des doses et des concentrations létales (LeOra Software, 1987; Robertson et *al.*, 2002).

ANNEXE II

ANALYSE COMPLÉMENTAIRE DE COMPARAISON DE LA TOXICITÉ RELATIVE DE SPIROTETRAMAT, SPINETORAM ET CLOTHIANIDIN ENTRE LES ESPÈCES ÉTUDIÉES

Nous avons créé une régression pour chacun des pesticides et ce pour chaque acarien prédateur (Tableau A.1). Toutes les droites créées à partir des données cumulées sont significatives au seuil de 0.05. De plus, toutes les données présentées de façon cumulée rencontrent les critères requis qui confirment l'ajustement des données au modèle. Cependant, certains modèles linéaires formés à partir des données présentées séparément ne respectent pas tous ces critères. Particulièrement chez le prédateur *G. occidentalis*, aucun de ces modèles ne rencontre tous les critères à l'opposé de *N. fallacis* où tous les modèles sont valides. Pour les besoins de comparaison entre espèces et d'analyses subséquentes, nous utiliserons la méthode de présentation cumulée dans les calculs de test de parallélisme, d'égalité et de comparaison des rapports.

Les réponses des deux acariens prédateurs à une augmentation de la concentration des pesticides évalués sont sensiblement les mêmes. Nous voyons dans le tableau A.2 et les graphiques A.1 à A.3 que les droites de régression des produits spinetoram et spirotetramat sont parallèles selon les tests de χ^2 . Cependant, les droites ne sont pas égales. Pour ces deux produits, *G. occidentalis* semble plus sensible et l'on discerne une mortalité naturelle sensiblement plus élevée que chez *N. fallacis*. Les tests de parallélisme et d'égalité des droites du clothianidin, se sont avérés non significatifs. L'hypothèse nulle n'est pas rejetée ce qui implique que les pentes ne sont pas différentes.

Pour le spirotetramat et le clothianidin, les CL_{50} entre les deux espèces diffèrent significativement alors que les CL_{50} pour le spinetoram sont identiques (Tableau A.3). Une comparaison des CL_{50} entre chacun des produits à l'intérieur d'une même espèce indique que tous les produits diffèrent de façon significative (Tableau A.4).

Tableau A.1 Valeurs des CL₅₀ de trois ingrédients actifs pour deux espèces d'acariens prédateurs, *Galendromus occidentalis* et *Neoseiulus fallacis* au stade femelle adulte selon deux méthodes de présentation des données pour l'analyse statistique lors d'épreuves biologiques en laboratoire.

Espèces	Ingrédients actifs	Calcul	n	Pente (± SE)	CL ₅₀ (95% I.C.) (g i.a. L ⁻¹)	dl	χ ² , valeur critique, α=0,05	h	t ratio	g	[champs] /CL ₅₀
<i>G. occidentalis</i>	Clothianidin	Cum*	290	2,104 (± 0,757)	2,288 (1,597-7,497)	2	1,8205 < 5,991	0,91	2,779	0,50	0,33
		Sép	290	2,104 (± 0,757)	2,288 (... - ...)	7	12,43 < 14,07	1,77	2,779	1,28	
	Spinetoram	Cum	455	3,516 (± 0,576)	0,006 (0,005-0,007)	3	1,9997 < 7,82	0,45	6,107	0,10	34,33
		Sép	475	3,288 (± 0,586)	0,00633 (0,004-0,008)	13	19,084 < 22,36	1,47	5,61	0,22	
	Spirotetramat	Cum	591	0,865 (± 0,122)	0,030 (0,015-0,050)	3	2,8033 < 7,82	0,93	7,07	0,08	7,69
		Sép	591	0,865 (± 0,122)	0,029 (0,009-0,061)	11	19,414 < 19,68	1,77	7,06	0,17	
	<i>N. fallacis</i>	Cum	520	0,675 (± 0,97)	0,057 (0,033-0,094)	3	2,5078 < 7,82	0,84	6,940	0,08	6,09
		Sép	520	0,696 (± 0,100)	0,056 (0,032-0,092)	13	5,015 < 22,36	0,38	6,903	0,08	
	Spinetoram	Cum	589	3,131 (± 0,371)	0,015 (0,013-0,017)	4	3,807 < 9,49	0,95	8,432	0,05	14,02
		Sép	589	3,131 (± 0,371)	0,015 (0,013-0,017)	14	13,590 < 23,69	0,97	8,432	0,05	
	Spirotetramat	Cum	567	0,728 (± 0,124)	0,506 (0,314-0,956)	3	1,9927 < 7,82	0,66	6,121	0,10	0,34
		Sép	567	0,728 (± 0,124)	0,507 (0,311-0,984)	13	3,486 < 22,36	0,27	5,921	0,11	

* Cum = Cumulées, les réplicats sont additionnés

Sép = Séparées, les réplicats ne sont pas additionnés

Tableau A.2 Tests de Parallélisme et d'égalité des régressions obtenues par analyse Probit sur la toxicité de trois ingrédients actifs évalués sur *Galendromus occidentalis* et *Neoseiulus fallacis*.

Ingrédients actifs	Tests de parallélisme				Tests d'égalité			
	Valeur de χ^2	dl	P	$\alpha =$ 0,05	Valeur de χ^2	dl	P	$\alpha =$ 0,05
Clothianidin	4,31	1	0,038	<0,05*	101	2	0,000	<0,05*
Spinetoram	0,05	1	0,829	>0,05	61,56	2	0,000	<0,05*
Spirotetramat	0,26	1	0,612	>0,05	72,94	2	0,000	<0,05*

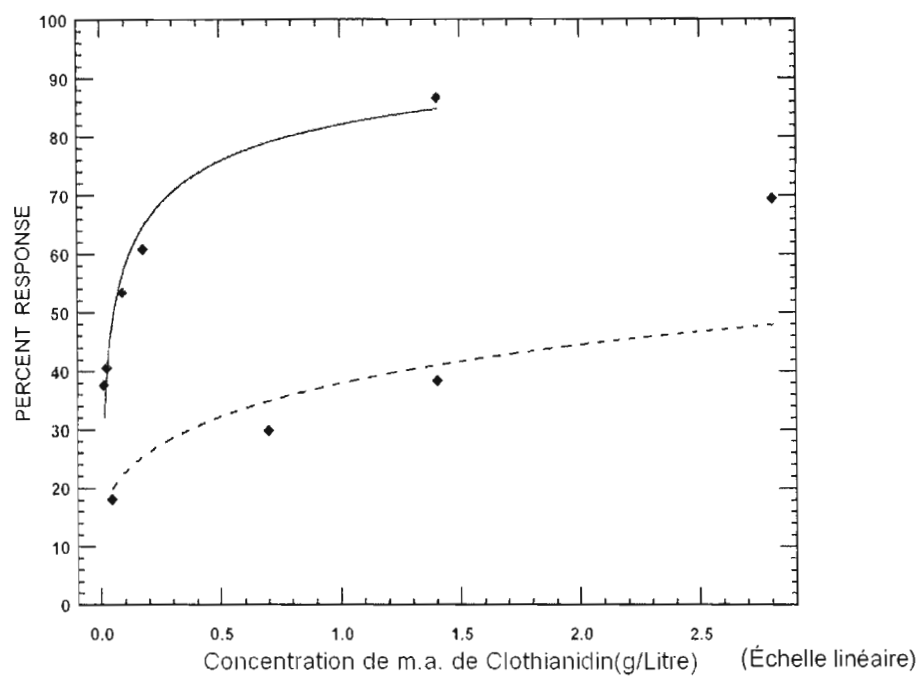
Tableau A.3 Analyse des rapports des CL_{50} entre *Galendromus occidentalis* et *Neoseiulus fallacis* pour trois ingrédients actifs à l'étude.

Ingrédients actifs	Rapport CL_{50}	Limites 95%	Inclue 1	CL_{50}
Clothianidin	0,025	0,012 – 0,051	NON	Différents
Spinetoram	0,433	0,344 – 0,545	OUI	Pas de différence
Spirotetramat	0,061	0,028 – 0,133	NON	Différents

Lorsque les intervalles de confiance à 95% arrondis à l'unité incluent 1, les estimés des CL_{50} sont considérés statistiquement non-différent.

Tableau A. 4 Analyse des rapports des CL₅₀ entre chaque ingrédient actif pour chaque prédateur Phytoseiidae

Ingrédients actifs comparés	<i>Galendromus occidentalis</i>			<i>Neoseiulus fallacis</i>		
	Rapport CL ₅₀	Limites 95%	Inclue 1	Rapport CL ₅₀	Limites 95%	Inclue 1
Spinetoram/clothianidin	0,003	0,002-0,005	NON	0,253	0,149-0,430	NON
Spirotetramat/clothianidin	0,013	0,006-0,028	NON	0,114	0,054-0,238	NON
Spinetoram/spirotetramat	0,205	0,112-0,375	NON	0,029	0,017-0,05	NON



PoloPlus 2.0

18 Dec 2009

Figure A. 1 Pourcentages de mortalité des femelles *G. occidentalis* (trait pointillé) et *N. fallacis* (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de clothianidin.

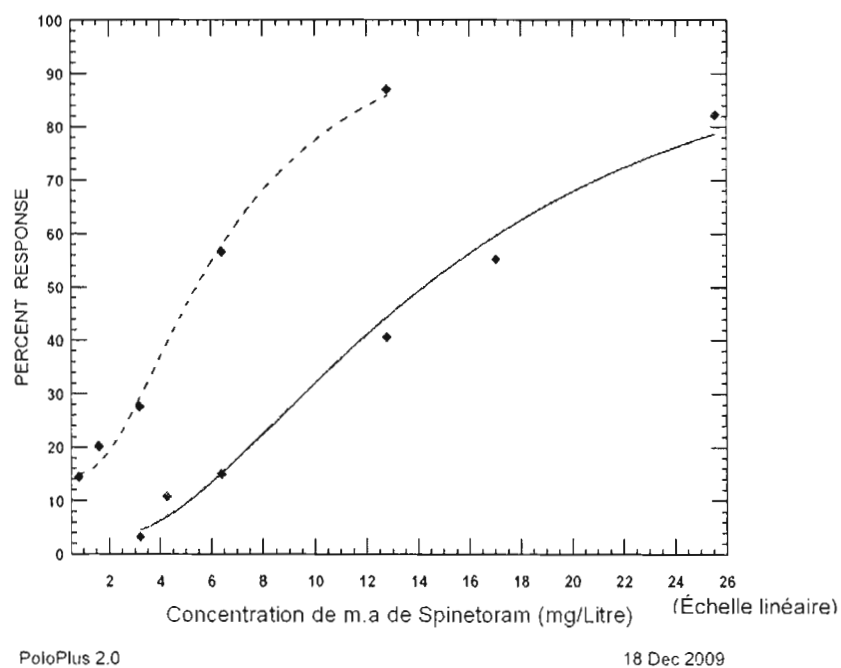


Figure A. 2 Pourcentages de mortalité des femelles *G. occidentalis* (trait pointillé) et *N. fallacis* (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de spinetoram.

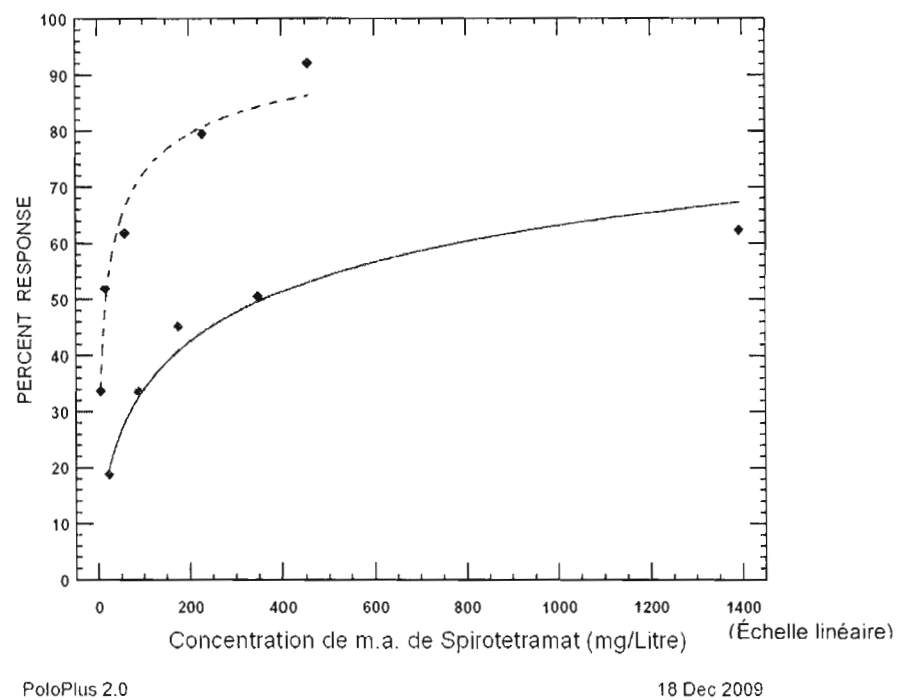
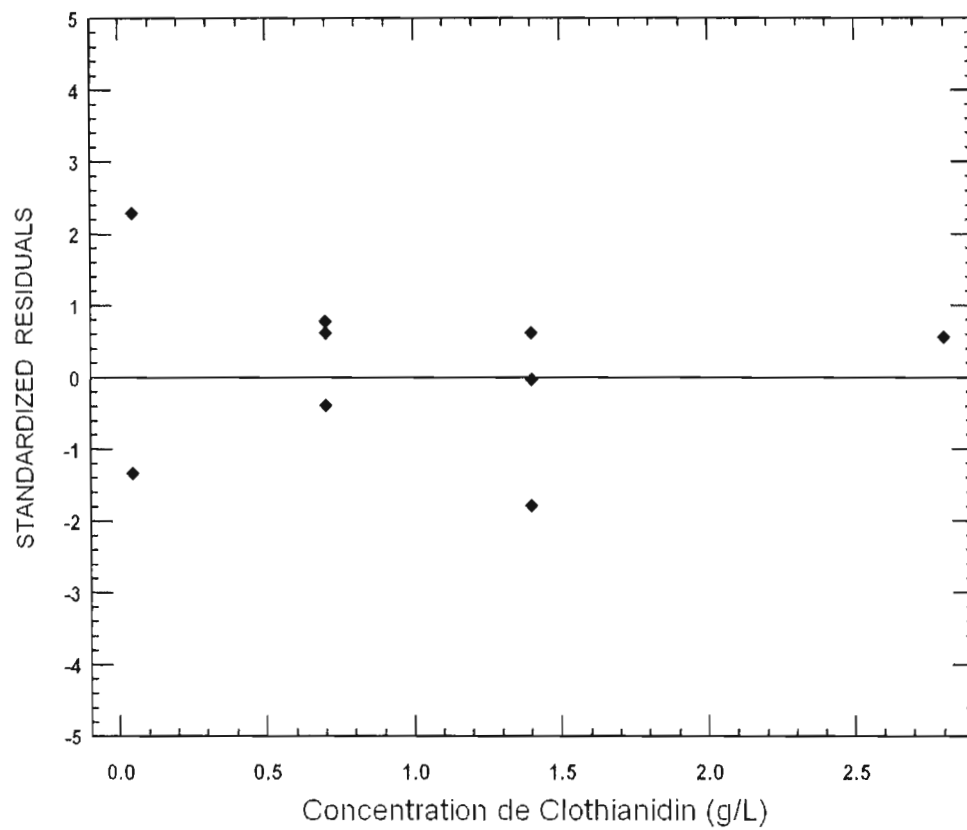


Figure A. 3 Pourcentages de mortalité des femelles *G. occidentalis* (trait pointillé) et *N. fallacis* (trait plein) d'âges différents suite à l'application en laboratoire de différentes concentrations de spirotetramat.



PoloPlus 2.0

14 Dec 2009

Figure A. 4 Représentation graphique des résidus de la régression de la mortalité de *Galendromus occidentalis* suite à une exposition au clothianidin.

BIBLIOGRAPHIE

Anonyme. *Crop Protection Guide for Tree Fruits in Washington*. Washington : State university extension EB0419, 2010.

Bakker, F., A. Grove, J. Blümel, J. Calis et P. Oomen. 1992. « Side-effect tests for phytoseiids and their rearing methods ». IOBC/wprs Bulletin. vol.15, p. 61-81.

Beers, E. H., J. F. Brunner, J. E. Dunley, M. Doerr et K. Granger. 2005. « Role of neonicotinyl insecticides in Washington apple integrated pest management. Part II. Nontarget effects on integrated mite control ». J. Insect Sci., vol. 5, no. 16, p.1-10

Blümel, S. et H. Hausdorf. 2002. « Results of the 8th and 9th IOBC Joint pesticide testing programme : Persistence test with *Phytoseiulus persimilis* Athias Henriot (Acari : Phytoseiidae) ». IOBC/wprs Bull. vol. 25, p. 43-51.

Bostanian, N. J., C. D. Dondale, M. R. Binns et D. Pitre. 1984. « Effects of pesticide use on spiders (Aranae) in Quebec apple orchards ». Canadian Entomologist vol. 116, no. 5, p. 663-675.

Bostanian, N. J., J. Lasnier et G. Racette. 1999. « Biological control of mites in Quebec apple orchards ». Canadian Fruit Grower. vol. 55, no. 8, Sept/Oct. p. 8-10.

- Bostanian, N. J. et N. Larocque. 2001. « Laboratory tests to determine the intrinsic toxicity of four fungicides and two insecticides to the predacious mite *Agistemus fleschneri* ». *Phytoparasitica* vol. 29, no. 3, p. 215-222
- Bostanian, N. J., H. Goulet, J. O'Hara, L. Masner et G. Racette. 2004. « Towards insecticide free apple orchards : flowering plants to attract beneficial arthropods ». *Biocontrol Sci. Techn.* vol. 14, no. 1, p. 25-37.
- Bostanian, N. J., J. M. Hardman, G. Racette, J. Franklin et J. Lasnier. 2006. « Inventory of predacious mites in Quebec commercial apple orchards where integrated pest management programs are implemented ». *Ann Entomol Soc Am.* vol. 99, no. 3, p. 536-544.
- Bostanian, N. J. et G. Racette. 2008. « Particle Films for Managing Arthropod Pests of Apple ». *J. Econ. Entomol.* vol. 101, no. 1, p. 145-150.
- Bostanian N. J., H. M. A. Thistlewood, J. M. Hardman, M-C. Laurin et G. Racette. 2009a. « Effect of seven new orchard pesticides on *Galendromus occidentalis* in laboratory studies ». *Pest Manag. Sci.* vol. 65, no. 6, p. 635-637.
- Bostanian N. J., H. M. A. Thistlewood, J. M. Hardman et G. Racette. 2009b. « Toxicity of six novel fungicides and sulphur to *Galendromus occidentalis* (Acari : Phytoseiidae) ». *Exp. Appl. Acarol.* vol. 47, no.1, p. 63-69.
- Bostanian, N. J., S. Beudjekian, E. McGregor et G. Racette. 2009c. « A modified excised leaf disc method to estimate the toxicity of slow- and fast-acting reduced-risk acaricides to mites ». *J. Econ. Entomol.* vol. 102, no. 6, p. 2084-2089.

- Bostanian, N. J., J. M. Hardman, H. M. A. Thistlewood et G. Racette. 2010. « Effects of six selected orchard insecticides on *Neoseiulus fallacis* (Acari : Phytoseiidae) in the laboratory ». *Pest Manag. Sci.* vol. 66, p. 1263-1267.
- Cordova, D., E. A. Benner, M. D. Sacher, J. J. Rauh, J. S. Sopa, G. P. Lahm, T. P. Selby, T. M. Stevenson, L. Flexner, S. Gutteridge, D. F. Rhoades, L. Wu, R. M. Smith et Y. Tao. 2006. « Anthranilic diamides : A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation ». *Pestic. Biochem. Physiol.* vol. 84, no. 3, p. 196-214.
- Croft, B. A. *Integrated control of apple mites*. Ext. Bull. E825 Mich St. U. Ext. Publ. 12 pp. 1975.
- Croft, B. A. 1979. « Managemet of apple arthropod pests and natural enemies relative to developed insecticide resistance ». *Environ. Entomol.* vol. 8, no. 4, p. 583-586.
- Croft B. A. 1982. « Apple Pest Management ». In *Introduction to insect pest management* 2nd edition. In Metcalf R. L., et W. H. Luckmann. 1982. *Introduction to insect pest management*. 2nd edition. Metcalf R.L. and Luckmann. John Wiley et Sons. 577 p.
- Croft, B. A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides*, John Wiley and Sons Inc. New York, USA, 723 p.
- Crouse, G. D., T. C. Sparks, , J. Schoonover, J. Gifford, J. Dripps, T. Bruce, L. L. Larson, J. Garlich, C. Hatton, R. L. Hill, T. V. Worden et J. G. Martynow. 2001. « Recent advances in the chemistry of spinosyns ». *Pest Manag. Sci.* vol. 57, no. 2, p. 177-185.

- Dinter, A., K. Brugger, A. Bassi, N. Martin Frost et M. D. Woodward. 2008. « Chlorantraniprole (DPX-E2Y45) DuPont Rynaxypyr[®], Coragen[®] and Altacor[®] insecticide) – a novel anthranilic diamide insecticide- demonstrating low toxicity and low risk for beneficial insects and predatory mites ». *Pesticides and Beneficial Organisms IOBC/wprs Bulletin* vol. 35, p. 128-135.
- Downing, R. S. et J. C. Arrand. 1978. « Integrated control of orchard mites » *BC Orchardist* vol. 8, no. 13, p. 1-8.
- Dripps, J., B. Olson, T. Sparks et G. Crouse. 2008. « Spinetoram: How artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn Insecticide ». *Plant Management Network*. En ligne : <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/>, Consulté: février 2010
- Ebbinghaus-Kintscher, U., P. Luemmen, N. Lobitz, T. Schulte, C. Funke, R. Fischer, T. Masaki, N. Yasokawa, M. Tohnishi. 2006. « Phthalic acid diamides activate ryanodine-sensitive Ca^{2+} release channels in insects ». *Cell Calcium* vol. 39, no. 1, p. 21-33.
- Elbert A., R. Nauen et W. Leight. 1998. « Imidacloprid, a novel chlorotinyl insecticide : Biological activity and agricultural importance. Dans : Ishaaya I. et D. Degheele (eds). *Insecticides with novel modes of action*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 50–73.
- El-Kady, G. A., H. M. El-Sharabasy, M. F. Mahmoud et I. M. Bahgat. 2007. « Toxicity of two potential bio-insecticides against moveable stages of *Tetranychus urticae* Koch ». *J. Appl. Sci. Research*, vol. 3, no. 11, 1315-1319.

- Farrier, M. H., G. C. Rock et R. Yeargan. 1980. « Mite species in North Carolina apple orchards with notes on their abundance and distribution ». *Environ. Entomol.* vol. 9, no. 4, p. 425- 429.
- Finney, D. J. 1978. *Statistical method in biological assay*. Bucks, England, Charles Griffin and Company limited, 507 p.
- Fischer, R. et H.-C. Weib. 2008. « Spirotetramat (Movento®) – discovery, synthesis and physicochemical properties ». *Bayer CropScience Journal* vol. 61, no. 2. p. 127-140.
- Fishel, F. M. 2005. *Pesticide toxicity profile : neonicotinoid pesticides*. IFAS Extension, University of Florida. Gainseville. En ligne : <http://edis.ifas.ufl.edu/pil117>, Consulté : novembre 2009.
- Ford, J. B. et F. M. Giboney. 1980. « Video recording techniques for predatory mite behaviour ». *Bull. SROP/OILB.* vol. 3, no.6, p. 35.
- Gerson, U., R. L. Smiley et R. Ocha. 2003. *Mites (Acari) for Pest Control*. Malden, USA, Blackwell Science. 539 p.
- Green, A. 2005 *Agriculture & Environment, Research Unit*. Pesticide Properties Database (PPDB). En ligne : <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/ppdb/index.htm>, Consulté : juin 2009
- Hassan, S. A. 1985. « Standard methods to test the side-effets of pesticides on natural enemies of insecticides and mites developped by the IOBC/WPRS

Working Group ». Pesticides and Beneficial Organisms. bulletin OEPP/EPPO vol.15, p. 214-255.

Helle, W. et M. W. Sabelis. 1985. *Spider mites, their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier. 458 p.

Henderson, C. F. et E. W. Tilton. 1955. « Test with Acaricides against the Brown Wheat Mite ». J. Econ. Entomol. vol. 48, no. 2, p. 157-161.

Howell, D. C., Y. Bestgen et V. Yzerbyt. 2008. *Méthodes statistiques en sciences humaines*. Bruxelles, De Boeck DL 2008. 832 p.

Hoy, M. A., G. L. Cunningham, et L. Knutson (Eds.). 1983. *Biological control of pest by mites*. Berkeley, CA, Univ. Calif. Div. Agric. Spec. Publ. 3304, Berkeley, 185 p.

Huffaker , C. B., M. Van de Vrie et J. A. McMurtry. 1969. « The ecology of tetranychid mites and their natural control ». Annu. Rev. Entomol. vol. 14, p. 125 – 174.

Huffaker, C. B. et C. E. Kennett. 1953. « Differential tolerance to parathion of two *Typhlodromus* predatory on cyclamen mite ». J. Econ. Entomol. vol. 46, p. 707-708.

James, D. G. 1997. « Imidacloprid increases egg production in *Amblyseius victoriensis* (Acari : Phytoseiidae) ». Exp. Appl. Acarol. vol. 21, no. 2, p. 75-82.

- James, D. G. 2003. « Toxicity of imidacloprid to *Galendromus occidentalis*, *Neoseiulus fallacis* and *Amblyseius andersoni* (Acari : Phytoseiidae) from hops in Washington State, USA ». Exp. App. Acarol. vol. 31, no. 3.-4, p. 275-281.
- Jeschke, P., H. Uneme, J. Benet-Buchholz, J. Stölting, W. Sirges, W. E. Beck et W. Etzel. 2003. « Clothianidin (TI-435) – The third member of the chloronicotinyl insecticide (CNITM) family ». Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer. vol. 56, no.1, p. 5-25.
- Lahm, G. P., T. P. Selby, J. H. Freudenberger, T. M. Stevenson, B. J. Myers, G. Seburyamo, B. K. Smith, L. Flexner, C. E. Clark et D. Cordova. 2005. « Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators ». Bioorg. Med. Chem. Letters. vol. 15, no. 22, p. 4898-4906.
- Lash H., D. F. Warnock et R. A. Cloyd. 2007. « Effect of pesticide mixtures on the survival of the predatory mite *Neoseiulus cucumeris* (Acarina : Phytoseiidae) ». J. Entomol. Sci. vol. 42, no.3, p. 311-319.
- Lasnier, J., N. J. Bostanian, M. Trudeau et G. Racette. 2002. *Lutte biologique contre les acariens nuisibles des pommiers*. Agriculture, Pêcheries et Alimentation Québec, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Co-Lab R&D Div. de Accord inc. Publication N° 02-0147 (2002-12).
- Lefebvre, M., N. J. Bostanian, G. Racette, H. Thistlewood et Y. Mauffette. 2010. « A laboratory assessment of the toxic attributes of six 'reduced risk insecticides' on *Galendromus occidentalis* (Acari : Phytoseiidae) ». Chemosphere, soumis le 18 mai 2010. Présenté ici comme **Chapitre II**

Leicht, W. 1993. « Imidacloprid - chloronicotinyl insecticide ». Pestic. Outlook vol. 4, p. 17-24.

LeOra Software, 1987. *Probit and Logit Analysis*. Polo-Pc. Bekley, CA.

Maus, C. 2008. « Ecotoxicological profile of the insecticide spirotetramat ». Bayer CropSci J. vol. 61, no. 2, p. 159-180.

McMurtry, J. A., C. B. Huffaker et M. Van De Vrie. 1970. « Ecology of tetranychid mites and their natural enemies a review Part 1 tetranychid enemies their biological characters and the impact of spray practices Part 2 tetranychid populations and their possible control by predators an evaluation ». Hilgardia vol. 40, no.11, p. 331-458.

McMurty, J. A. et B. A. Croft. 1997. « Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control ». Annu. Rev. Entomol. vol. 42, p. 291-321.

Metcalf R. L., et W. H. Luckmann. 1982. *Introduction to insect pest management*. 2nd edition. Metcalf R.L. and Luckmann. John Wiley et Sons. 577 p.

Mizell R. F. et M. C. Sconyers. 1992. « Toxicity of imidacloprid to selected arthropods in the laboratory ». Fla. Ent. Vol. 75, p. 277-280.

Motoyama N., G. C. Rock et W. C. Dauterman. 1971. « Studies on the mechanism of azinphosmethyl resistance in the predaceous mite, *Neoseiulus (t.) fallacis* (family: Phytoseiidae) ». Pestic. Biochem. Physiol. vol.1, no. 2, p. 205-215.

- Oatman , E. R., E. F. Legner et R. F. Brooks. 1964. « An ecological study of arthropod populations on apple in northeastern Wisconsin : Insect species present ». J. Econ. Entomol. vol. 57, no. 6, p. 978 - 983.
- Park C. G., J. K. Yoo et L. O. Lee. 1996. « Toxicity of some pesticides to two-spotted spider mite (Acari : Tetranychidae) and its predator *Amblyseius womersleyi* (Acari : Phytoseiidae) ». Korean J. Appl. Entomol. vol. 35, p. 232-237.
- Robertson, J. L., K. C. Smith, N. E. Savin et R. J. Lavigne. 1984. « Effects of dose selection and sample size and the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression ». J. Econ. Entom. vol. 77. p. 833-837.
- Robertson, J. L. et S. P. Worner. 1990. « Population toxicology : suggestion for laboratory bioassays to predict pesticide efficacy ». J. Econ. Entomol. vol. 83, no. 1, p. 8-12.
- Robertson J. L. et H. K. Preisler. 1992. *Pesticide bioassays with arthropods*. CRC Press.
- Robertson, J. R., H. K. Preisler et R. M. Russell. 2002. *Polo Plus. Probit and logit analysis users guide*. LeOra Software, Petaluna, CA.
- Robertson, J. L. R. M. Russel, H. K. Preisler et N. E. Savin. 2007. *Bioassays with arthropods*. Florida, USA, CRC Press. 199 p.
- Rock, G. et R. R. Yeargan. 1970. « Relative toxicity of Plictran® miticide to the European red mite, the twospotted spider mite and the predacious mite

Neoseiulus (Typhlodromus) fallacis, (Family : Phytoseiidae) ». Down to Earth. vol. 26, p. 1-4.

Rock , G. C. *Integrated control of mites*. Agric. Exp. Serv. Fruit Insect Note, A-1, N.C. State Univ. Publ. 18 pp. 1972.

Saenz-de-Cabezón Irigaray, F. J. et F. G. Zalom. 2006. « Side effects of five new acaricides on the predator *Galendromus occidentalis* (Acari, Phytoseiidae) ». Exp. App. Acarol., vol. 38, no. 4, p. 299-305.

Saenz-de-Cabezón Irigaray, F. J. et F. G. Zalom. 2007. « Selectivity of acaricide exposure on *Galendromus occidentalis* reproductive potential ». Biocontrol Sci. Technol. vol. 17, no. 5, p. 541-546.

Saenz-de-Cabezón Irigaray, F. J., F. G. Zalom et P. B. Thompson. 2007. « Residual toxicity of acaricides to *Galendromus occidentalis* and *Phytoseiulus persimilis* reproductive potential ». Biol. Control vol. 40, no. 2, p. 153-159.

Saldago V. L. 1998. « Studies on the mode of action of Spinosad : insect symptoms and physiological correlates ». Pestic. Biochem. Physiol. vol. 60, p. 91-102.

Sang S. K., S. G. Sang, D. P. Jong, G. K. Seon et I. K. Do. 2005. « Effects of selected pesticides on the predatory mite *Amblyseius cucumeris* (Acari : Phytoseiidae) ». J. Entomol. Sci. vol. 40, p. 107-114.

SAS Institute. 2002. JMPTM Version 5. Statistics and Graphics Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.

- Schmuck, R. et J. Keppler. 2003. « Clothianidin – Ecotoxicological profile and risk assessment ». Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer. vol. 56, no. 1, p. 26-58.
- Sherrod D. W. 2008. *Altacor™ WG Insecticide (DPX-E2Y45) Introducing a novel anthranilic diamide insecticide from DuPont*. D. C. Protection. Memphis, TN.
- Sokal, R. R. et F. J. Rohlf. 1981. *Biometry, the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco, W.H. Freeman and company. 859 p.
- Solymar, B. *Profil de la culture de la pomme au Canada, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Programme de réduction des risques liés aux pesticides*. Centre pour la lutte antiparasitaire Ottawa, Ontario. 2004. 57 p.
- Stark, J. D., L. Tanigoshi, M. Bounfour et A. Antonelli. 1997. « Reproductive potential : Its influence on the susceptibility of a species to pesticides ». *Ecotoxicol Environ Safety*. vol. 37, no. 3, p. 273-279.
- Stark, J. D. et J. A. O. Banken. 1999. « Importance of population structure at the time of toxicant exposure ». *Ecotoxicol Environ Safety*. vol. 42, no. 3, p. 282-287.
- Statistique Canada. 2006. *Recensement de l'agriculture de 2006, Tableaux de données sur les exploitations et les exploitants agricoles*; En ligne : <http://www.statcan.gc.ca/pub/95-629-x/2007000/4123849-fra.htm#fruit>, Consulté : mai 2009.
- Swift, F. C. 1970. « Predation of *Typhlodromus (A.) fallacis* on the European red mite as measured by insecticide check method ». *J. Econ. Entomol.* vol. 63, no. 5, p. 1617-1618.

- Thistlewood, H. M. A. 1991. « A survey of predatory mites in Ontario apple orchards with diverse pesticide programs ». *Can Entomol.* vol. 123. no. 6, p. 1163-1174.
- Thistlewood, H. M. A., D. J. Pree et L. A. Crawford. 1995. « Selection and genetic analysis of permethrin resistance in *Amblyseius fallacis* (Garman) (Acari : Phytoseiidae) from Ontario apple orchards ». *Exp. Appl. Acarol.* vol. 19, no 12, p. 707-721.
- Tohnishi, M., H. Nakao, T. Furuya, A. Seo, H. Kodama, K. Tsubata, S. Fujioka, H. Kodama, T. Hirooka et T. Nishimatsu. 2005. « Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect pests ». *J. Pestic. Sci.* vol. 30, no. 4, p. 354-360.
- Unruh, T. R., D. Horton, R. Hilton, H. Riedl, E. H. Beers et N. Mills. 2006. *Effects of new insecticides on natural enemies : acute toxicity and sublethal effects*. Final grant report to the Washington Tree Fruit Research Commission, January 2006, 10 p.
- U. S. Department of Agriculture. 2008. *Statistics of Fruits, Tree Nuts, and Horticultural Specialties*. Chapitre V. Agricultural Statistics, 2008. En ligne : www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2008/Chap05.pdf, Consulté : février 2010.
- U. S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, United States. 2001a. *Pesticide fact sheet. Chlorantraniliprole*, 77 p. En ligne : <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/chloran.html>, Consulté : novembre 2009

- U. S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, United States.
2001b. *Pesticide fact sheet. Novaluron*, 4 p. En ligne : www.epa.gov/opprd001/factsheets/novaluron.pdf, Consulté : novembre 2009.
- U. S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, United States.
2003. *Pesticide fact sheet. Clothianidin* : 19 pages. En ligne : www.epa.gov/opprd001/factsheets/clothianidin.pdf, Consulté : novembre 2009.
- U. S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, United States.
2008. *Pesticide fact sheet. Spirotetramat*, 74 p. En ligne : www.epa.gov/opprd001/factsheets/spirotetramat.pdf, Consulté : janvier 2010.
- U. S. EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, United States.
2009. *Pesticide fact sheet. Spinetoram*, 13 p. En ligne : <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/spinetoram.pdf>, Consulté : novembre 2010.
- Van Steenwyk, R. A. et J. E. Dunley. 2008. « Spinetoram - a second generation spinosyn insecticide for pear pest management ». *Acta Hortic.* vol. 800, p. 867-874.
- Van-Der Staay, M. 1991. « Side effects of pesticides ». *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent.* vol. 56, p. 355-358.
- Villanueva R. T. et J. F. Walgenbach. 2005. « Development, oviposition, and mortality of *Neoseiulus fallacis* (Acar : Phytoseiidae) in response to reduced-risk insecticides ». *J. Econ. Entomol.* vol. 98, no. 6, p. 2114-2120.

- Weires, R. W., F. J. McNicholas, et G. L. Smith. 1979. « Integrated mite control in Hudson and Champlain valley apple orchards ». New York State Agric. Exp. Sta. Search (Agric.) vol. 9, no. 4, p. 9-11.
- Zhang, Z. et Croft, B. A. 1994. « A comparative life history study of immature *Amblyseius fallacis*, *Amblyseius andersoni*, *Typhlodromus occidentalis* and *Typhlodromus pyri* (Acari : Phytoseiidae) with a review of larval feeding patterns in the family ». Exp. App. Acarol. vol. 18, p. 631-657.
- Zhang, Z. Q. et J. P. Sanderson. 1990. « Relative toxicity of abamectin to the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari : Phytoseiidae) and twospotted spider mite (Acari : Tetranychidae) ». J. Econ. Entomol. vol. 83, no. 5, p. 1783-1790.